



(21) 申请号 201680069750.1

A61K 39/395 (2006.01)

(22) 申请日 2016.12.06

C07K 16/30 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 108290954 A

(56) 对比文件

WO 2015095410 A1, 2015.06.25

WO 2015095410 A1, 2015.06.25

(43) 申请公布日 2018.07.17

US 2011300066 A1, 2011.12.08

(30) 优先权数据

15198715.3 2015.12.09 EP

16172739.1 2016.06.02 EP

16193151.4 2016.10.10 EP

HASSAN等.Pretreatment with rituximab

does not inhibit the human immune

response against the immunogenic protein

LMB-1.《CLINICAL CANCER RESEARCH》.2004,第

10卷(第1期),摘要.

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2018.05.29

Freeman等.Pattern of cytokine release

in patients with chronic lymphocytic

leukaemia treated with obinutuzumab and

possible relationship with development of

infusion related reactions.《blood》.2014,

第124卷(第21期),

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2016/079800 2016.12.06

(87) PCT国际申请的公布数据

WO2017/097723 EN 2017.06.15

Freeman等.Cytokine release in

patients with CLL treated with

obinutuzumab and possible relationship

with infusion-related reactions.《Blood》

.2015,第126卷(第24期),

(73) 专利权人 豪夫迈·罗氏有限公司

地址 瑞士巴塞尔

(72) 发明人 M·巴卡克 S·艾弗斯

C·克莱恩 P·皮萨 E·罗斯曼

J·萨罗 P·乌马纳

审查员 王思佳

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

专利代理师 岑晓东

(51) Int.Cl.

C07K 16/28 (2006.01)

权利要求书2页 说明书104页

序列表82页 附图18页

(54) 发明名称

II型抗CD20抗体用于降低抗药物抗体形成

(57) 摘要

本发明涉及治疗疾病的方法和用于降低响应治疗剂的施用而发生的抗药物抗体(ADA)形成的方法。本发明进一步涉及治疗疾病,特别是B细胞增殖性病症的方法和用于降低响应治疗剂,特别是T细胞活化性治疗剂的施用而发生的副作用的方法。

1. II型抗CD20抗体制备供一种用于在受试者中降低针对治疗剂的抗药物抗体(ADA)形成的方法使用的药物的用途,该方法包括在施用该治疗剂之前将该II型抗CD20抗体施用于该受试者,其中该II型抗CD20抗体包含重链可变区和轻链可变区,该重链可变区包含如SEQ ID NO: 4所示的HCDR1,如SEQ ID NO: 5所示的HCDR2和如SEQ ID NO: 6所示的HCDR3,该轻链可变区包含如SEQ ID NO: 7所示的LCDR1,如SEQ ID NO: 8所示的LCDR2和如SEQ ID NO: 9所示的LCDR3,其中该治疗剂是包含特异性结合癌胚抗原(CEA)的抗体的双特异性抗体或包含特异性结合CEA的抗体的免疫缀合物。

2. 权利要求1的用途,其中该II型抗CD20抗体的施用和该治疗剂的施用之间的该段时间足以响应该II型抗CD20抗体的施用而发生降低该受试者中的B细胞的数量。

3. II型抗CD20抗体制备供一种在受试者中治疗疾病并降低针对治疗剂的抗药物抗体(ADA)形成的方法使用的药物的用途,该方法包含包括下述的治疗方案:

(i) 对该受试者施用该II型抗CD20抗体,其中该II型抗CD20抗体包含重链可变区和轻链可变区,该重链可变区包含如SEQ ID NO: 4所示的HCDR1,如SEQ ID NO: 5所示的HCDR2和如SEQ ID NO: 6所示的HCDR3,该轻链可变区包含如SEQ ID NO: 7所示的LCDR1,如SEQ ID NO: 8所示的LCDR2和如SEQ ID NO: 9所示的LCDR3,

并且序贯地在一段时间后

(ii) 对该受试者施用治疗剂,其中该治疗剂是包含特异性结合CEA的抗体的双特异性抗体或包含特异性结合CEA的抗体的免疫缀合物,

其中该II型抗CD20抗体的施用和该治疗剂的施用之间的时间段足以响应该II型抗CD20抗体的施用而降低该受试者中的B细胞的数量,且

其中与不施用该II型抗CD20抗体的相应治疗方案相比该治疗方案有效降低该受试者中响应该治疗剂的施用而发生的抗药物抗体(ADA)形成。

4. 治疗剂和II型抗CD20抗体制备供一种在受试者中治疗疾病的方法使用的药物的用途,该方法包含包括下述的治疗方案:

(i) 对该受试者施用II型抗CD20抗体,其中该II型抗CD20抗体包含重链可变区和轻链可变区,该重链可变区包含如SEQ ID NO: 4所示的HCDR1,如SEQ ID NO: 5所示的HCDR2和如SEQ ID NO: 6所示的HCDR3,该轻链可变区包含如SEQ ID NO: 7所示的LCDR1,如SEQ ID NO: 8所示的LCDR2和如SEQ ID NO: 9所示的LCDR3,

并且序贯地在一段时间后

(ii) 对该受试者施用该治疗剂,其中该治疗剂是包含特异性结合CEA的抗体的双特异性抗体或包含特异性结合CEA的抗体的免疫缀合物,

其中该II型抗CD20抗体的施用和该治疗剂的施用之间的时间段足以响应该II型抗CD20抗体的施用而降低该受试者中的B细胞的数量,

其中与不施用该II型抗CD20抗体的相应治疗方案相比该治疗方案有效降低该受试者中响应该治疗剂的施用而发生的抗药物抗体(ADA)形成。

5. 权利要求1-4中任一项的用途,其中该II型抗CD20抗体的施用和该治疗剂的施用之间的该段时间是3天至21天。

6. 权利要求1-5中任一项的用途,其中该II型抗CD20抗体的施用和该治疗剂的施用之间的该段时间是12天至13天。

7. 权利要求1-6中任一项的用途,其中该II型抗CD20抗体包含如SEQ ID NO: 10所示的重链可变区序列和如SEQ ID NO: 11所示的轻链可变区序列。

8. 权利要求1-7中任一项的用途,其中该II型抗CD20抗体是IgG抗体。

9. 权利要求1-8中任一项的用途,其中该II型抗CD20抗体是IgG1抗体。

10. 权利要求1-9中任一项的用途,其中该II型抗CD20抗体包含Fc区。

11. 权利要求1-10中任一项的用途,其中该II型抗CD20抗体包含IgG Fc区。

12. 权利要求1-11中任一项的用途,其中该II型抗CD20抗体包含IgG1 Fc区。

13. 权利要求10-12中任一项的用途,其中该II型抗CD20抗体的Fc区中至少40%的N连接的寡糖是非岩藻糖基化的。

14. 权利要求1-13中任一项的用途,其中该II型抗CD20抗体是奥滨尤妥珠单抗(Obinutuzumab)。

15. 权利要求1-14中任一项的用途,其中该II型抗CD20抗体的施用是一次施用。

16. 权利要求1-14中任一项的用途,其中该II型抗CD20抗体的施用是两次或更多次分开施用。

17. 权利要求16的用途,其中该II型抗CD20抗体的施用是在连续两天或更多天上的两次或更多次分开施用。

18. 权利要求1-17中任一项的用途,其中该II型抗CD20抗体的施用是2 g II型抗CD20抗体的剂量。

19. 权利要求1-18中任一项的用途,其中胃肠外施用该治疗剂。

20. 权利要求1-19中任一项的用途,其中静脉内施用该治疗剂。

21. 权利要求1-20中任一项的用途,其中该特异性结合CEA的抗体包含重链可变区和轻链可变区,该重链可变区包含如SEQ ID NO: 14所示的HCDR1,如SEQ ID NO: 15所示的HCDR2和如SEQ ID NO: 16所示的HCDR3,该轻链可变区包含如SEQ ID NO: 17所示的LCDR1,如SEQ ID NO: 18所示的LCDR2和如SEQ ID NO: 19所示的LCDR3。

22. 权利要求1-21中任一项的用途,其中该特异性结合CEA的抗体包含如SEQ ID NO: 20所示的重链可变区序列和如SEQ ID NO: 21所示的轻链可变区序列。

23. 权利要求1-22中任一项的用途,其中该双特异性抗体包含特异性结合CD3的抗体。

24. 权利要求23的用途,其中该特异性结合CD3的抗体特异性结合CD3 ϵ 。

25. 权利要求23或24的用途,其中该特异性结合CD3的抗体包含重链可变区和轻链可变区,该重链可变区包含如SEQ ID NO: 32所示的HCDR1,如SEQ ID NO: 33所示的HCDR2和如SEQ ID NO: 34所示的HCDR3,该轻链可变区包含如SEQ ID NO: 35所示的LCDR1,如SEQ ID NO: 36所示的LCDR2和如SEQ ID NO: 37所示的LCDR3。

26. 权利要求23-25中任一项的用途,其中该特异性结合CD3的抗体包含如SEQ ID NO: 38所示的重链可变区序列和如SEQ ID NO: 39所示的轻链可变区序列。

27. 权利要求1-22中任一项的用途,其中该免疫缀合物包含白介素-2。

28. 权利要求27的用途,其中该白介素-2是包含氨基酸替代F42A,Y45A和L72G的突变型人IL-2多肽,编号方式相对于人IL-2序列SEQ ID NO: 12。

II型抗CD20抗体用于降低抗药物抗体形成

发明领域

[0001] 本发明涉及治疗疾病的方法和用于降低响应治疗剂的施用而发生的抗药物抗体(ADA)形成的方法。本发明进一步涉及治疗疾病,特别是B细胞增殖性病症的方法和用于降低响应治疗剂,特别是T细胞活化性治疗剂的施用而发生的副作用的方法。

[0002] 发明背景

[0003] 对于临床设置中的使用可得的生物技术衍生的治疗剂的数目在最近几年中显著增加,而且包括重组人细胞因子(例如 α 和 β 干扰素,白介素-2),细胞生长因子(例如GM-CSF),激素(例如胰高血糖素),神经肌肉拮抗剂(例如肉毒杆菌毒素),血液产品(例如凝固因子VIII),重组受体(例如依那西普)和单克隆抗体。虽然治疗性蛋白质一般认为是安全且无毒的,但是在治疗期间能发生针对这些治疗剂的抗体,称作抗药物抗体(ADA)。

[0004] 已经关于多种治疗剂,诸如红细胞生成素,因子VIII,胰岛素,免疫毒素和单克隆抗体观察到ADA(Schellekens and Casadevall, J Neurol (2004), 251[Suppl 2]:II/4-II/9; Mossoba et al., Clin Cancer Res (2011) 17(11):3697-3705; Hsu et al., British Journal of Dermatology (2014) 170, 261-273)。ADA形成在例如用TNF阻断剂治疗的自身免疫患者中是频繁的且影响临床结局(Schaeffer et al., Rheumatology (2015) doi: 10.1093/rheumatology/kev277)。

[0005] ADA的发生可影响治疗剂的血清浓度和功能。ADA的存在可经由在治疗剂和抗体(中和性的,非中和性的或二者)之间形成免疫复合物而提高治疗剂的清除,如此缩短治疗剂的半衰期。而且,治疗剂的活性和有效性可经由抗体结合治疗剂而降低。ADA还可以与变应性或超敏感性反应和其它不良事件相关。

[0006] 由于这些与免疫应答相关的不良事件能影响治疗剂的安全性和功效概况,因此对克服或抑制ADA的策略的鉴定和开发极感兴趣。

[0007] 已经调查了数种蛋白质工程办法来降低蛋白质治疗剂的免疫原性,包括例如掩蔽或改变蛋白质B细胞表位或修饰蛋白质T细胞表位。然而,这些办法的临床安全性和成功尚未测试,而且会需要大量时间进行评估。因此,存在紧迫的需要,开发使用FDA批准的试剂来阻止ADA应答的新干预。

[0008] 已经报告了瞄准宿主免疫遏制的基于化疗的办法(Mossoba et al., Clin Cancer Res (2011) 17(11):3697-3705)。

[0009] 抗CD20抗体利妥昔单抗已经用于与甲氨蝶呤和静脉内免疫球蛋白组合在蓬珀(Pompe)病患者中实现对酶代替疗法的耐受(Mendelsohn et al., NEJM (2009) 360:2, 194-195)。然而,在一项临床试验中,宿主利妥昔单抗预处理并未抑制针对免疫毒素LMB-1的人免疫应答(Hassan et al., Clin Cancer Res (2004) 10, 16-18)。

[0010] B细胞增殖性病症描述一组异类的恶性,包括白血病和淋巴瘤二者。淋巴瘤自淋巴细胞发生且包括两大类别:霍奇金(Hodgkin)淋巴瘤(HL)和非霍奇金淋巴瘤(NHL)。在美国,B细胞起源的淋巴瘤构成所有非霍奇金淋巴瘤病例的大约80-85%,而且基于起源B细胞中的基因型和表型表达样式,B细胞子集内有可观的异质性。例如,B细胞淋巴瘤子集包括缓慢

生长的无痛且不能治愈的疾病,诸如滤泡性淋巴瘤 (FL) 或慢性淋巴细胞性白血病 (CLL),以及更具攻击性的亚型,套细胞淋巴瘤 (MCL) 和弥漫性大B细胞淋巴瘤 (DLBCL)。

[0011] 尽管多种用于治疗B细胞增殖性病症的药剂可得,然而当前需要开发安全且有效的疗法在患者中延长消退和改善治愈率。

[0012] 当前正在调查的一种策略是针对恶性B细胞的T细胞的啮合。为了有效啮合针对恶性B细胞的T细胞,最近开发了两种策略。这两种策略是:1) 施用离体改造成识别肿瘤细胞的T细胞(也称作嵌合抗原受体修饰的T细胞疗法[CAR-T细胞]) (Maude et al., N Engl J Med (2014) 371,1507-1517);和2) 施用活化内源T细胞的药剂,诸如双特异性抗体 (Oak and Bartlett, Expert Opin Investig Drugs (2015) 24,715-724)。

[0013] Maude等人的研究中报告了第一种办法的一个例子,其中用经CD19定向嵌合抗原受体慢病毒载体转导的自体T细胞 (CTL019 CAR-T细胞) 治疗30名成人和儿童患者。结果是持续的消退,其基于67%的6个月无事件存活率和78%的总体存活率。然而,所有患者具有细胞因子释放综合征 (CRS) (与肿瘤负荷相关),27%的患者具有严重的CRS。还注意到高频率的原因未知的中枢神经系统毒性。

[0014] 与之对比,涉及活化内源T细胞来识别肿瘤靶的第二种办法规避了这种可扩展性 (scalability) 障碍,而且还能提供竞争性功效,安全性数据和潜在的长期应答持续时间。在不同CD20⁺血液学恶性中,这种办法的最好的例子是博纳吐单抗 (Blinatumomab),一种CD19 CD3靶向性T细胞双特异性分子 (Bargou et al., Science (2008) 321,974-977),它最近批准用于具有最低限度残余疾病阳性急性淋巴细胞性白血病 (ALL) 的患者。由两个单链 Fv 片段构成 (所谓的 **BiTE®** 格式) 的这种化合物引导溶胞性T细胞裂解CD19⁺细胞。博纳吐单抗的主要约束是它的半衰期短 (大约2小时),这使得在4-8周里经由泵连续输注成为必要。无论如何,它在具有复发性/顽固性非霍奇金淋巴瘤 (r/r NHL) 和ALL二者的患者中具有有力的功效,需要递升的剂量给药 (SUD) 来减轻严重的细胞因子释放综合征和CNS毒性 (Nagorsen and Baeuerle, Exp Cell Res (2011) 317,1255-1260)。

[0015] CD20 CD3靶向性T细胞双特异性分子CD20XCD3 bsAB是下一代B细胞靶向性抗体的另一个例子。CD20XCD3 bsAB是靶向B细胞上表达的CD20和T细胞上存在的CD3 ϵ 链 (CD3 ϵ) 的T细胞双特异性 (TCB) 抗体。

[0016] CD20XCD3 bsAB的作用机制包含同时结合CD20⁺B细胞和CD3⁺T细胞,引起T细胞活化和T细胞介导的B细胞杀伤。在CD20⁺B细胞存在下,无论正在循环或者驻留组织,药理学活性剂量会触发T细胞活化和相关的细胞因子释放。CD20XCD3 bsAB已经在非临床模型中显示出胜过竞争性T细胞啮合剂的增强的效力,而且具有基于IgG的格式而具有胜过博纳吐单抗大大改善的半衰期。

[0017] 细胞因子释放是T细胞活化的结果。在由TeGenero进行的一项1期研究 (Suntharalingam et al., N Engl J Med (2006) 355,1018-1028) 中,所有6名健康志愿者均在输注不当剂量的T细胞刺激性超激动性抗CD28单克隆抗体后迅速经历接近致死的,严重的细胞因子释放综合征 (CRS)。更近地,在上文提到的Maude等人的CD19靶向性嵌合抗原受体T细胞 (CAR-T细胞) 治疗具有复发性ALL的患者的研究中,所有30名患者均具有细胞因子释放,在27%的患者中归类为严重。CRS是CAR-T细胞疗法的常见但严重的并发症 (综述见Xu and Tang, Cancer Letters (2014) 343,172-178)。

[0018] 对CD19-CD3 T细胞双特异性药剂博纳吐单抗也频繁观察到严重的CRS和CNS毒性(Klinger et al., Blood. 2012; 119 (26) : 6226-6233)。在所有临床试验中接受博纳吐单抗的患者中,在大约50%的患者中发生神经学毒性,而且观察到的毒性的类型在包装插页中有完善定义。

[0019] CNS毒性是否或如何与较早的细胞因子释放或T细胞活化相关的了解不多。与博纳吐单抗类似,用CD19靶向性CAR-T细胞治疗的具有r/r ALL的患者中43% (13/30) 报告了CNS AE (范围为谵妄至全球脑病) (Maude et al., N Engl J Med (2014) 371, 1507-1517; Ghorashian et al., Br J Haematol (2015) 169, 463-478)。神经学毒性作用典型地在CRS的症状达到峰值并开始消退后发生;然而,没有发现直接,明确的与严重CRS的关联。作者提出神经毒性的机制可能牵涉直接CAR-T细胞介导的毒性或它可能是细胞因子介导的。与之对比,严重的CRS和神经毒性(例如脑病)之间的关联已经在CD19靶向性CAR-T细胞疗法的另一项研究中提示(Davila et al., Sci Transl Med (2014) 6, 224ra25) 且推测是由于一般性T细胞活化,较之直接CAR-T诱导的损伤而言。

[0020] 与将CD3⁺细胞连接至组织局限性(即非循环)靶细胞的其它T细胞双特异性抗体相比,细胞因子释放和/或CNS相关毒性在将CD3⁺细胞连接至B细胞的T细胞双特异性抗体中特别突出。

[0021] 如此,需要降低或阻止这些有希望的药剂的此类副作用的方法,这些药剂具有显著促进具有B细胞增殖性病症诸如NHL和CLL的患者的治疗的潜力。

[0022] 发明概述

[0023] 本发明基于令人惊讶的发现,即通过用II型抗CD20抗体,诸如奥滨尤妥珠单抗预处理受试者,(i)能有效且持久地阻止响应免疫原性治疗剂对所述受试者的施用而发生的ADA形成,且(ii)能显著降低与治疗剂,特别是T细胞活化性治疗剂,诸如CD20XCD3 bsAB对所述受试者的施用相关的细胞因子释放。

[0024] 奥滨尤妥珠单抗(Obinutuzumab)是以高亲和力结合CD20抗原的人源化的糖工程化的II型抗CD20单抗,诱导抗体依赖性细胞的细胞毒性(ADCC)和抗体依赖性细胞的吞噬(ADCP),低补体依赖性细胞毒性(CDC)活性,和高直接细胞死亡诱导。至今,已经在正在进行的奥滨尤妥珠单抗临床试验中在数以百计的患者中评估和管理奥滨尤妥珠单抗的安全性概况(包括细胞因子释放)。

[0025] 不希望受理论束缚,奥滨尤妥珠单抗(GAZYVA®)预处理(GPT)的使用应当有助于迅速消减外周血和二级淋巴样器官二者中的B细胞,使得来自(T细胞活化性)治疗剂所致强系统性T细胞活化的高度有关不良事件(AE)(例如CRS)的风险降低,同时支持自剂量给药起高得足以介导肿瘤细胞消除的暴露水平的治疗剂。在支持(T细胞活化性)治疗剂,诸如CD20XCD3 bsAB的安全性概况以外,GPT应当还有助于阻止针对治疗性分子的抗药物抗体(ADA)形成。

[0026] 对于患者,GPT应当转化为更好的药物暴露及增强的安全性概况。

[0027] GPT应当与所使用的其它方法,诸如逐步放大剂量给药(SUD)相比在达成上述目标方面更加有效。例如,一旦决定,没有自逐步放大剂量给药起的时间延迟,单剂奥滨尤妥珠单抗应当容许复发性/顽固性患者接受完整治疗性剂量的T细胞活化性治疗剂,诸如CD20XCD3 bsAB。与之对比,最近报告了在一项正在进行的2期试验中具有r/r DLBCL的患者

的博纳吐单抗剂量给药方案并入一种双重逐步放大办法(即 $9 \rightarrow 28 \rightarrow 112 \mu\text{g}/\text{m}^2/\text{天}$),如此,需要14天来达到 $112 \mu\text{g}/\text{m}^2/\text{天}$ 的最大剂量(Viardot et al., Hematol Oncol (2015) 33, 242 (Abstract 285)).如实施例显示的,奥滨尤妥珠单抗预处理后,CD20xCD3 bsAB对食蟹猴的施用直至比没有GPT的情况下耐受的水平要高十倍的水平得到耐受。GPT后观察到有效的外周血B细胞消减和抗肿瘤活性连同强烈降低的外周血中与第一次CD20xCD3 bsAB注射相关的细胞因子释放。

[0028] 因而,在第一个方面,本发明提供一种用于(i)在受试者中降低针对治疗剂的抗药物抗体(ADA)形成和/或(ii)在受试者中降低与治疗剂,特别是T细胞活化性治疗剂的施用相关的细胞因子释放的方法,其包括在施用该治疗剂之前将II型抗CD20抗体施用于该受试者。在一个实施方案中,该II型抗CD20抗体的施用和该治疗剂的施用之间的时间段足以响应该II型抗CD20抗体的施用而降低该受试者中的B细胞的数目。

[0029] 在又一个方面,本发明提供一种在受试者中治疗疾病的方法,该方法包含包括下述的治疗方案:

[0030] (i) 对该受试者施用II型抗CD20抗体,

[0031] 并且序贯地在一段时间后

[0032] (ii) 对该受试者施用治疗剂,

[0033] 其中该II型抗CD20抗体的施用和该治疗剂的施用之间的时间段足以响应该II型抗CD20抗体的施用而降低该受试者中的B细胞的数目。

[0034] 在一个实施方案中,与不施用该II型抗CD20抗体的相应治疗方案相比该治疗方案有效降低该受试者中响应该治疗剂的施用而发生的抗药物抗体(ADA)形成。

[0035] 在另一个实施方案中,与不施用该II型抗CD20抗体的相应治疗方案相比该治疗方案有效降低该受试者中与该治疗剂的施用相关的细胞因子释放。在此类实施方案中,该治疗剂优选是T细胞活化性治疗剂。

[0036] 在又一个方面,本发明提供一种II型抗CD20抗体,其用于一种用于(i)在受试者中降低针对治疗剂的抗药物抗体(ADA)形成和/或(ii)在受试者中降低与治疗剂,特别是T细胞活化性治疗剂的施用相关的细胞因子释放的方法,该方法包括在施用该治疗剂之前将该II型抗CD20抗体施用于该受试者。

[0037] 在一个实施方案中,该II型抗CD20抗体的施用和该治疗剂的施用之间的时间段足以响应该CD20抗体的施用而降低该受试者中的B细胞的数目。

[0038] 在又一个方面,本发明提供一种II型抗CD20抗体,其用于一种在受试者中治疗疾病的方法,该方法包含包括下述的治疗方案:

[0039] (i) 对该受试者施用该II型抗CD20抗体,

[0040] 并且序贯地在一段时间后

[0041] (ii) 对该受试者施用治疗剂,

[0042] 其中该II型抗CD20抗体的施用和该治疗剂的施用之间的时间段足以响应该II型抗CD20抗体的施用而降低该受试者中的B细胞的数目。

[0043] 在一个实施方案中,与不施用该抗CD20抗体的相应治疗方案相比该治疗方案有效降低该受试者中(响应该治疗剂的施用而发生的)针对该治疗剂的抗药物抗体(ADA)形成。

[0044] 在另一个实施方案中,与不施用该II型抗CD20抗体的相应治疗方案相比该治疗方

案有效降低该受试者中与该治疗剂的施用相关的细胞因子释放。在此类实施方案中，该治疗剂优选是T细胞活化性治疗剂。

[0045] 在又一个方面，本发明提供II型抗CD20抗体在制造用于(i)在受试者中降低针对治疗剂的抗药物抗体(ADA)形成和/或(ii)在受试者中降低与治疗剂，特别是T细胞活化性治疗剂的施用相关的细胞因子释放的药物中的用途，

[0046] 其中该药物要用于包括下述的治疗方案：

[0047] (i) 对该受试者施用该II型抗CD20抗体，

[0048] 并且序贯地在一段时间后

[0049] (ii) 对该受试者施用治疗剂，

[0050] 其中该II型抗CD20抗体的施用和该治疗剂的施用之间的时间段足以响应该II型抗CD20抗体的施用而降低该受试者中的B细胞数目。

[0051] 在一个实施方案中，与不施用该抗CD20抗体的相应治疗方案相比该治疗方案有效降低该受试者中针对该治疗剂的抗药物抗体(ADA)形成。

[0052] 在另一个实施方案中，与不施用该II型抗CD20抗体的相应治疗方案相比该治疗方案有效降低该受试者中与该治疗剂的施用相关的细胞因子释放。在此类实施方案中，该治疗剂优选是T细胞活化性治疗剂。

[0053] 在仍有又一个方面，本发明提供一种用于(i)在受试者中降低针对治疗剂的抗药物抗体(ADA)形成和/或(ii)在受试者中降低与治疗剂，特别是T细胞活化性治疗剂的施用相关的细胞因子释放的试剂盒，其包含包装，该包装包含II型抗CD20抗体组合物和关于在包括下述的治疗方案中使用该II型抗CD20抗体组合物的用法说明书：

[0054] (i) 对该受试者施用该II型抗CD20抗体组合物，

[0055] 并且序贯地在一段时间后

[0056] (ii) 对该受试者施用治疗剂，

[0057] 其中该II型抗CD20抗体组合物的施用和该治疗剂的施用之间的时间段足以响应该II型CD20抗体的施用而降低该受试者中的B细胞数目。

[0058] 在一个实施方案中，与不施用该II型抗CD20抗体组合物的相应治疗方案相比该治疗方案有效降低该受试者中针对该治疗剂的抗药物抗体(ADA)形成。

[0059] 在另一个实施方案中，与不施用该II型抗CD20抗体组合物的相应治疗方案相比该治疗方案有效降低该受试者中与该治疗剂的施用相关的细胞因子释放。在此类实施方案中，该治疗剂优选是T细胞活化性治疗剂。

[0060] 在一个实施方案中，该试剂盒进一步包含治疗剂组合物。

[0061] 在又一个方面，本发明提供一种治疗剂，其用于一种在受试者中治疗疾病的方法，该方法包含包括下述的治疗方案：

[0062] (i) 对该受试者施用II型抗CD20抗体，

[0063] 并且序贯地在一段时间后

[0064] (ii) 对该受试者施用该治疗剂，

[0065] 其中该II型抗CD20抗体的施用和该治疗剂的施用之间的时间段足以响应该CD20抗体的施用而降低该受试者中的B细胞数目。

[0066] 在一个实施方案中，与不施用该II型抗CD20抗体的相应治疗方案相比该治疗方案

有效降低该受试者中响应该治疗剂的施用而发生的抗药物抗体 (ADA) 形成。

[0067] 在另一个实施方案中,与不施用该II型抗CD20抗体的相应治疗方案相比该治疗方案有效降低该受试者中与该治疗剂的施用相关的细胞因子释放。在此类实施方案中,该治疗剂优选是T细胞活化性治疗剂。

[0068] 在仍有又一个方面,本发明提供治疗剂在制造用于在受试者中治疗疾病的药物中的用途,其中该治疗包含包括下述的治疗方案:

[0069] (i) 对该受试者施用II型抗CD20抗体,

[0070] 并且序贯地在一段时间后

[0071] (ii) 对该受试者施用该治疗剂,

[0072] 其中该II型抗CD20抗体的施用和该治疗剂的施用之间的时间段足以响应该II型抗CD20抗体的施用而降低该受试者中的B细胞的数目。

[0073] 在一个实施方案中,与不施用该II型抗CD20抗体的相应治疗方案相比该治疗方案有效降低该受试者中响应该治疗剂的施用而发生的抗药物抗体 (ADA) 形成。

[0074] 在另一个实施方案中,与不施用该II型抗CD20抗体的相应治疗方案相比该治疗方案有效降低该受试者中与该治疗剂的施用相关的细胞因子释放。在此类实施方案中,该治疗剂优选是T细胞活化性治疗剂。

[0075] 本发明在又一个方面,提供一种用于在受试者中治疗疾病的试剂盒,其包含包装,该包装包含治疗剂组合物和关于在包括下述的治疗方案中使用该治疗剂组合物的用法说明书:

[0076] (i) 对该受试者施用II型抗CD20抗体,

[0077] 并且序贯地在一段时间后

[0078] (ii) 对该受试者施用该治疗剂组合物,

[0079] 其中该II型抗CD20抗体的施用和该治疗剂组合物的施用之间的时间段足以响应该II型抗CD20抗体的施用而降低该受试者中的B细胞的数目。

[0080] 在一个实施方案中,与不施用该II型抗CD20抗体组合物的相应治疗方案相比该治疗方案有效降低该受试者中针对该治疗剂的抗药物抗体 (ADA) 形成。

[0081] 在另一个实施方案中,与不施用该II型抗CD20抗体组合物的相应治疗方案相比该治疗方案有效降低该受试者中与该治疗剂的施用相关的细胞因子释放。在此类实施方案中,该治疗剂优选是T细胞活化性治疗剂。

[0082] 在一个实施方案中,该试剂盒进一步包含II型抗CD20抗体组合物。

[0083] 本发明的方法,用途,II型抗CD20抗体,治疗剂和试剂盒可以单一或组合并入本文中下文描述的任何特征。

[0084] 在一个实施方案中,该II型抗CD20抗体包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:4的重链CDR (HCDR) 1,SEQ ID NO:5的HCDR2,和SEQ ID NO:6的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:7的轻链CDR (LCDR) 1,SEQ ID NO:8的LCDR2和SEQ ID NO:9的LCDR3。

[0085] 在一个更加具体的实施方案中,该II型抗CD20抗体包含SEQ ID NO:10的重链可变区序列和SEQ ID NO:11的轻链可变区序列。

[0086] 在一个实施方案中,该II型抗CD20抗体是IgG抗体,特别是IgG1抗体。

[0087] 在一个实施方案中,该II型抗CD20抗体改造成具有Fc区中与未改造的抗体相比比例升高的非岩藻糖基化的寡糖。在一个实施方案中,该II型抗CD20抗体的Fc区中至少约40%的N连接的寡糖是非岩藻糖基化的。

[0088] 在一个特定的实施方案中,该抗CD20抗体是奥滨尤妥珠单抗。

[0089] 在一些实施方案中,特别是涉及本发明中关注降低受试者中针对治疗剂的抗药物抗体(ADA)形成的方面,该治疗剂包含多肽。

[0090] 在一些实施方案中,特别是涉及本发明中关注降低受试者中针对治疗剂的抗药物抗体(ADA)形成的方面,该治疗剂包含抗体。

[0091] 在一个此类实施方案中,该抗体特异性结合癌胚抗原(CEA)。在一个实施方案中,该抗体包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:14的重链CDR(HCDR)1,SEQ ID NO:15的HCDR2,和SEQ ID NO:16的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:17的轻链CDR(LCDR)1,SEQ ID NO:18的LCDR2和SEQ ID NO:19的LCDR3。在又一个实施方案中,该抗体包含SEQ ID NO:20的重链可变区序列和SEQ ID NO:21的轻链可变区序列。

[0092] 在另一个此类实施方案中,该抗体特异性结合CD3,特别是CD3 ϵ 。在一个实施方案中,该抗体包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:32的重链CDR(HCDR)1,SEQ ID NO:33的HCDR2,和SEQ ID NO:34的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:35的轻链CDR(LCDR)1,SEQ ID NO:36的LCDR2和SEQ ID NO:37的LCDR3。在又一个实施方案中,该抗体包含SEQ ID NO:38的重链可变区序列和SEQ ID NO:39的轻链可变区序列。

[0093] 在一些实施方案中,特别是涉及本发明中关注降低受试者中针对治疗剂的抗药物抗体(ADA)形成的方面,该治疗剂包含细胞因子。

[0094] 在一个此类实施方案中,该细胞因子是白介素-2(IL-2)。

[0095] 在另一个此类实施方案中,该细胞因子是包含氨基酸替代F42A,Y45A和L72G(编号方式相对于人IL-2序列SEQ ID NO:12)的突变型人IL-2多肽。

[0096] 在一些实施方案中,特别是涉及本发明中关注受试者中降低针对治疗剂的抗药物抗体(ADA)形成的方面,该治疗剂包含免疫缀合物。

[0097] 在一个此类实施方案中,该免疫缀合物包含(a)抗体,其特异性结合CEA且包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:14的重链CDR(HCDR)1,SEQ ID NO:15的HCDR2,和SEQ ID NO:16的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:17的轻链CDR(LCDR)1,SEQ ID NO:18的LCDR2和SEQ ID NO:19的LCDR3,和(b)突变型人IL-2多肽,其包含氨基酸替代F42A,Y45A和L72G(编号方式相对于人IL-2序列SEQ ID NO:12)。

[0098] 在一个特定的此类实施方案中,该治疗剂包含cergutuzumab amunaleukin(CEA-IL2v)。

[0099] 在一些实施方案中,特别是涉及本发明中关注降低受试者中针对治疗剂的抗药物抗体(ADA)形成的方面,该治疗剂包含特异性结合CEA和CD3的双特异性抗体。

[0100] 在一个此类实施方案中,该治疗剂包含双特异性抗体,该双特异性抗体包含(i)特异性结合CD3的抗原结合模块,其包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:32的重链CDR(HCDR)1,SEQ ID NO:33的HCDR2,和SEQ ID NO:34的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:35的轻链CDR(LCDR)1,SEQ ID NO:36的LCDR2和SEQ ID NO:37的LCDR3;和(ii)特异性结合CEA的抗原结合模块,其包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:

14的重链CDR (HCDR) 1,SEQ ID NO:15的HCDR2,和SEQ ID NO:16的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:17的轻链CDR (LCDR) 1,SEQ ID NO:18的LCDR2和SEQ ID NO:19的LCDR3。

[0101] 在一个特定的实施方案中,该治疗剂包含CEA TCB。

[0102] 在一些实施方案中,特别是涉及本发明中关注降低受试者中与治疗剂的施用相关的细胞因子释放的方面,该治疗剂是T细胞活化性治疗剂。

[0103] 在一个实施方案中,该T细胞活化性治疗剂包含抗体,特别是多特异性(例如双特异性)抗体。

[0104] 在一个实施方案中,该抗体特异性结合活化性T细胞抗原。

[0105] 在一个实施方案中,该抗体特异性结合选自CD3,CD28,CD137(也称作4-1BB),CD40,CD226,OX40,GITR,CD27,HVEM,和CD127的组的抗原。

[0106] 在一个实施方案中,该抗体特异性结合CD3,特别是CD3 ϵ 。

[0107] 在一个实施方案中,该抗体包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:32的重链CDR (HCDR) 1,SEQ ID NO:33的HCDR2,和SEQ ID NO:34的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:35的轻链CDR (LCDR) 1,SEQ ID NO:36的LCDR2和SEQ ID NO:37的LCDR3。

[0108] 在一个实施方案中,该抗体包含SEQ ID NO:38的重链可变区序列和SEQ ID NO:39的轻链可变区序列。

[0109] 在一个实施方案中,该抗体特异性结合B细胞抗原,特别是恶性B细胞抗原。

[0110] 在一个实施方案中,该抗体特异性结合选自由CD20,CD19,CD22,ROR-1,CD37和CD5组成的组的抗原,特别是CD20或CD19。

[0111] 在一个实施方案中,该抗体特异性结合CD20。

[0112] 在一个实施方案中,该抗体包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:4的重链CDR (HCDR) 1,SEQ ID NO:5的HCDR2,和SEQ ID NO:6的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:7的轻链CDR (LCDR) 1,SEQ ID NO:8的LCDR2和SEQ ID NO:9的LCDR3。

[0113] 在一个实施方案中,该抗体包含SEQ ID NO:10的重链可变区序列和SEQ ID NO:11的轻链可变区序列。

[0114] 在一个实施方案中,该抗体是多特异性抗体,特别是双特异性抗体。

[0115] 在一个实施方案中,该多特异性抗体特异性结合(i)活化性T细胞抗原和(ii)B细胞抗原。

[0116] 在一个实施方案中,该多特异性抗体特异性结合(i)CD3和(ii)选自CD20和CD19的抗原。

[0117] 在一个实施方案中,该多特异性抗体特异性结合CD3和CD20。

[0118] 在一些实施方案中,特别是涉及本发明中关注降低受试者中与治疗剂的施用相关的细胞因子释放的方面,该治疗剂包含双特异性抗体,该双特异性抗体包含(i)特异性结合CD3的抗原结合模块,其包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:32的重链CDR (HCDR) 1,SEQ ID NO:33的HCDR2,和SEQ ID NO:34的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:35的轻链CDR (LCDR) 1,SEQ ID NO:36的LCDR2和SEQ ID NO:37的LCDR3;和(ii)特异性结合CD20的抗原结合模块,其包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:4

的重链CDR (HCDR) 1, SEQ ID NO:5的HCDR2, 和SEQ ID NO:6的HCDR3; 和轻链可变区, 该轻链可变区包含SEQ ID NO:7的轻链CDR (LCDR) 1, SEQ ID NO:8的LCDR2和SEQ ID NO:9的LCDR3。

[0119] 在一个特定的实施方案中, 该治疗剂包含CD20XCD3 bsAB。

[0120] 在一些实施方案中, 特别是涉及本发明中关注降低受试者中与治疗剂的施用相关的细胞因子释放的方面, 该治疗剂包含嵌合抗原受体 (CAR) 或表达CAR的T细胞, 特别是特异性结合B细胞抗原的CAR, 更加特别是特异性结合选自CD20, CD19, CD22, ROR-1, CD37和CD5的组的抗原的CAR。

[0121] 在一些实施方案中, 特别是涉及本发明中关注降低受试者中与治疗剂的施用相关的细胞因子释放的方面, 该疾病是B细胞增殖性病症, 特别是CD20阳性B细胞病症。在一个实施方案中, 该疾病选自由非霍奇金 (Hodgkin) 淋巴瘤 (NHL), 急性淋巴细胞性白血病 (ALL), 慢性淋巴细胞性白血病 (CLL), 弥漫性大B细胞淋巴瘤 (DLBCL), 滤泡性淋巴瘤 (FL), 套细胞淋巴瘤 (MCL), 边缘区淋巴瘤 (MZL), 多发性骨髓瘤 (MM), 和霍奇金淋巴瘤 (HL) 组成的组。

[0122] 附图简述

[0123] 图1。在食蟹猴中奥滨尤妥珠单抗而非利妥昔单抗或媒介的在先处理导致破伤风类毒素特异性从头IgG抗体应答削弱。Rituxan指利妥昔单抗而GA101指奥滨尤妥珠单抗。

[0124] 图2。在食蟹猴中在具有针对麻疹的基线滴度的动物中响应麻疹/风疹加强疫苗接种的免疫再攻击而发生的麻疹特异性IgG抗体生成的记忆回忆应答不受奥滨尤妥珠单抗或利妥昔单抗影响。Rituxan指利妥昔单抗而GA101指奥滨尤妥珠单抗。

[0125] 图3。奥滨尤妥珠单抗预处理开始前 (BL=基线), R06895882处理开始前 (C1D1=周期1第1天) 和R06895882处理期间外周血样品中的B细胞计数 (CD45+CD19+)。线/符号代表患者个体。自C1D1时间点起, 外周血样品中检测不到B细胞。

[0126] 图4。基线时 (BL) 和奥滨尤妥珠单抗处理后 (经过处理的) 收集的肿瘤活检中通过流式细胞术检测的CD19+细胞 (B细胞) 减少。在R06895882处理前或期间获得处理时样品。CD45+细胞 (淋巴细胞) 中CD19染色阳性 (B淋巴细胞) 的百分比强烈减少 (B)。对CD16+细胞 (天然杀伤细胞) (A) 或CD3+细胞 (T淋巴细胞) (C) 的百分比没有观察到明显变化。线代表患者个体。

[0127] 图5。基线时 (BL) 和奥滨尤妥珠单抗处理后 (经过处理的) 收集的肿瘤活检中通过免疫组织化学测量的B细胞减少。在R06895882处理前或期间获得处理时样品。通过CD20 (A, B) 和PAX5 (C, D) 染色测量B淋巴细胞的密度。两种方法均检测到肿瘤和周围正常组织中的B淋巴细胞消减。线代表患者个体。

[0128] 图6。在本发明中有用的T细胞活化性双特异性抗原结合分子 (TCB) 的例示性构造。(A, D) “1+1CrossMab”分子的图示。(B, E) 具有备选次序的Crossfab和Fab构件的 (“倒转的”) “2+1IgG Crossfab”分子的图示。(C, F) “2+1IgG Crossfab”分子的图示。(G, K) 具有备选次序的Crossfab和Fab构件的 (“倒转的”) “1+1IgG Crossfab”分子的图示。(H, L) “1+1IgG Crossfab”分子的图示。(I, M) 具有两个CrossFab的 “2+1IgG Crossfab”分子的图示。(J, N) 具有两个CrossFabs和备选次序的Crossfab和Fab构件的 (“倒转的”) “2+1IgG Crossfab”分子的图示。(O, S) “Fab-Crossfab”分子的图示。(P, T) “Crossfab-Fab”分子的图示。(Q, U) “(Fab)₂-Crossfab”分子的图示。(R, V) “Crossfab-(Fab)₂”分子的图示。(W, Y) “Fab-(Crossfab)₂”分子的图示。(X, Z) “(Crossfab)₂-Fab”分子的图示。黑色点: 任选的Fc域中促

进异二聚化的修饰。++，--：CH1和CL域中任选引入的相反电荷的氨基酸。Crossfab分子描绘为包含VH和VL区的交换，但是在CH1和CL域中没有引入电荷修饰的实施方案中，或者可以包含CH1和CL域的交换。

[0129] 图7。不同处理组中外周血中的B细胞和T细胞计数。第一次和第二次CD20XCD3 bsAB施用后24小时和72小时，媒介和CD20XCD3 bsAB处理的完全人源化的NOG小鼠的外周血中CD19⁺B细胞 (A) 和CD3⁺T细胞 (B) 的流式细胞术分析。黑色箭指CD20XCD3 bsAB施用的日子。

[0130] 图8。不同处理组间外周血中释放的细胞因子。第一次和第二次施用CD20XCD3 bsAB后24小时和72小时，媒介和经过处理的小鼠的血液中细胞因子的多路分析。柱状图的条代表5只动物的均值，误差条指标准偏差。显示了IFN γ (A)，TNF α (B) 和IL-6 (C) 的代表性图。比较在有和无奥滨尤妥珠单抗预处理的情况下第一次注射CD20XCD3 bsAB的细胞因子释放(通过连线标示要比较的条)。

[0131] 图9。CD20XCD3 bsAB，奥滨尤妥珠单抗，和奥滨尤妥珠单抗预处理 (Gpt) +CD20XCD3 bsAB的抗肿瘤活性。在完全人源化的NOG小鼠中作为单一疗法的CD20XCD3 bsAB和奥滨尤妥珠单抗或Gpt+CD20XCD3 bsAB的抗肿瘤活性。黑色箭指疗法开始。(8<n<10)。肿瘤模型：WSU-DLCL2。

[0132] 图10。CD20XCD3 bsAB和Gpt+CD20XCD3 bsAB处理的剂量给药后食蟹猴的外周血中释放的细胞因子。(A) IFN γ ，(B) IL-8，(C) TNF α ，(D) IL-2，(E) IL-6。

[0133] 图11。携带WSU-DLCL2肿瘤的完全人源化的NOG小鼠中递升剂量的CD20XCD3 bsAB和奥滨尤妥珠单抗预处理 (Gpt) 后的抗肿瘤活性。小鼠接受第一次疗法(箭)，或是作为CD20XCD3 bsAB的分剂量(0.15, 0.05, 0.015mg/kg IV) 或是Gpt (10mg/kg奥滨尤妥珠单抗)，接着是每周静脉内注射0.5mg/kg (全剂量) CD20XCD3 bsAB，进行9个处理周期(即9周)。在媒介组中，1只小鼠自第18天起显示。对于其它组，n=9或10。肿瘤模型：皮下注射WSU-DLCL2。[CD20XCD3 bsAB 0.05mg/kg+CD20XCD3 bsAB 0.05mg/kg]对[奥滨尤妥珠单抗10mg/kg+CD20XCD3 bsAB 0.5mg/kg]*p=0.018 (sAUC的单因素ANOVA分析，Dunnet氏方法)。

[0134] 图12。来自携带WSU-DLCL2肿瘤的完全人源化NOG小鼠的肺中的T细胞染色，(A-D) 第一次处理后7天，和(E-H) 第二次处理后24小时。处理组如下(单次处理或第一次+第二次处理)：(A) 媒介，(B) 奥滨尤妥珠单抗10mg/kg，(C) CD20XCD3 bsAB 0.15mg/kg，(D) CD20XCD3 bsAB 0.5mg/kg，(E) 媒介+媒介，(F) 奥滨尤妥珠单抗10mg/kg+CD20XCD3 bsAB 0.5mg/kg，(G) CD20XCD3 bsAB 0.15mg/kg+CD20XCD3 bsAB 0.5mg/kg，(H) 媒介+CD20XCD3 bsAB 0.5mg/kg。用抗CD3抗体对肺切片免疫组织化学染色(暗)；用苏木精对核复染色。放大倍数20倍。箭指向血管周CD3阳性细胞的增多。

[0135] 图13。单次0.5mg/kg CD20XCD3 bsAB处理后24小时处死的人源化NOG小鼠的肺。T细胞(箭)对血管中的内皮的迁移并粘附。少数T细胞移居至血管周隙(星号)。(A) 放大20倍，(B) 放大40倍。

[0136] 图14。在食蟹猴中在有或无奥滨尤妥珠单抗预处理的情况下的单次静脉内施用后CD20XCD3 bsAB的血清浓度-时间曲线。在有或无奥滨尤妥珠单抗预处理 (Gpt) (50mg/kg，在CD20XCD3 bsAB施用前4天) 的情况下对食蟹猴施用单剂IV 100-1000 μ g/kg CD20XCD3 bsAB。每一个剂量组中代表6只动物且以均值 $\pm$ SD呈现数据。

[0137] 发明详述

[0138] 定义

[0139] 除非下文另外定义,如本领域中通常使用的那样在本文中使用的术语。

[0140] CD20 (也称作B淋巴细胞抗原CD20,B淋巴细胞表面抗原B1,Leu-16,Bp35,BM5,和LF5;人蛋白质在UniProt数据库条目P11836中表征)是一种在前B和成熟B淋巴细胞上表达的具有约35kD分子量的疏水性跨膜蛋白 (Valentine,M.A.et al.,J.Biol.Chem.264 (1989) 11282-11287;Tedder,T.F.,et al.,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.85 (1988) 208-212;Stamenkovic,I.,et al.,J.Exp.Med.167 (1988) 1975-1980;Einfeld,D.A.,et al.,EMBO J.7 (1988) 711-717;Tedder,T.F.,et al.,J.Immunol.142 (1989) 2560-2568)。相应的人基因是跨膜4域,亚家族A,成员1,也称作MS4A1。此基因编码跨膜4A基因家族的一个成员。此初生蛋白质家族的成员特征在于共同的结构特征和相似的内含子/外显子剪接边界且在造血细胞和非淋巴样组织中展示独特的表达样式。此基因编码在B细胞发育和分化成浆细胞中发挥作用的B淋巴细胞表面分子。在一簇家族成员中,此家族成员定位于11q12。此基因的可变剪接产生编码同一蛋白质的两种转录物变体。

[0141] 如本文中使用的,术语“CD20”指来自任何脊椎动物来源,包括哺乳动物,诸如灵长动物(例如人)和啮齿动物(例如小鼠和大鼠)的任何天然CD20,除非另外指明。该术语涵盖“全长”,未加工的CD20以及源自细胞中加工的任何形式的CD20。该术语还涵盖CD20的天然发生变体,例如剪接变体或等位变体。在一个实施方案中,CD20是人CD20。一种例示性人CD20的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:1。

[0142] 术语“抗CD20抗体”和“结合CD20的抗体”指能够以足够亲和力结合CD20,使得该抗体在靶向CD20中可用作诊断剂和/或治疗剂的抗体。在一个实施方案中,抗CD20抗体对无关非CD20蛋白的结合程度小于该抗体对CD20的结合的约10%,如通过例如放射免疫测定法(RIA)测量的。在某些实施方案中,结合CD20的抗体具有 $\leq 1\mu\text{M}$, $\leq 100\text{nM}$, $\leq 10\text{nM}$, $\leq 1\text{nM}$, $\leq 0.1\text{nM}$, $\leq 0.01\text{nM}$ 或 $\leq 0.001\text{nM}$ (例如 10^{-8}M 或更低,例如 10^{-8}M 至 10^{-13}M ,例如 10^{-9}M 至 10^{-13}M)的解离常数(K_d)。在某些实施方案中,抗CD20抗体结合在来自不同物种的CD20间保守的CD20表位。

[0143] “II型抗CD20抗体”意指具有Cragg et al.,Blood 103 (2004) 2738-2743;Cragg et al.,Blood 101 (2003) 1045-1052;Klein et al.,mAbs 5 (2013),22-33中描述的,及下文表1中汇总的II型抗CD20抗体的结合特性和生物学活性的抗CD20抗体。

[0144] 表1:I型和II型抗CD20抗体的特性

[0145]	I型抗CD20抗体	II型抗CD20抗体
	结合I类CD20表位	结合II类CD20表位
	将CD20定位于脂筏	不将CD20定位于脂筏
	高CDC *	低CDC *
[0146]	ADCC活性 *	ADCC活性 *
	完全结合B细胞的能力	大约一半结合B细胞的能力
	弱同型聚集	同型聚集
	低细胞死亡诱导	强细胞死亡诱导

[0147] *若为IgG1同种型的话

[0148] II型抗CD20抗体的例子包括例如奥滨尤妥珠单抗(obinutuzumab) (GA101), 托西莫单抗(tositumumab) (B1), 人源化的B-Ly1抗体IgG1(一种嵌合的人源化IgG1抗体, 如披露于WO 2005/044859), 11B8 IgG1(如披露于WO 2004/035607) 和AT80 IgG1。

[0149] I型抗CD20抗体的例子包括例如利妥昔单抗(rituximab), 奥法木单抗(ofatumumab), 维妥珠单抗(veltuzumab), ocaratuzumab, 奥瑞珠单抗(ocrelizumab), PR0131921, ublituximab, HI47 IgG3 (ECACC, 杂交瘤), 2C6 IgG1(如披露于WO 2005/103081), 2F2 IgG1(如披露于WO 2004/035607和WO 2005/103081) 和2H7 IgG1(如披露于WO 2004/056312)。

[0150] 术语“人源化B-Ly1抗体”指如WO 2005/044859和WO 2007/031875中所披露的人源化B-Ly1抗体, 其通过用来自IgG1的人恒定域嵌合化及接着的人源化自鼠单克隆抗CD20抗体B-Ly1(鼠重链可变区(VH):SEQ ID NO:2;鼠轻链可变区(VL):SEQ ID NO:3(参见Poppema, S. and Visser, L., Biotest Bulletin 3(1987) 131-139) 获得(参见WO 2005/044859和WO 2007/031875)。这些“人源化B-Ly1抗体”详细披露于WO 2005/044859和WO 2007/031875。

[0151] 如本文中使用的, 术语“细胞因子”指介导和/或调节生物学或细胞功能或过程(例如免疫, 炎症和造血作用)的分子。如本文中使用的, 术语“细胞因子”包括“淋巴因子”, “趋化因子”, “单核因子”和“白介素”。可用的细胞因子的例子包括但不限于, GM-CSF, IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-15, IFN- α , IFN- β , IFN- γ , MIP-1 α , MIP-1 β , TGF- β , TNF- α 和TNF- β 。一种具体的细胞因子是IL-2。如本文中使用的, 术语“细胞因子”还意为包括细胞因子变体, 其在相应野生型细胞因子的氨基酸序列中包含一个或多个氨基酸突变, 如例如Sauvé et al., Proc Natl Acad Sci USA 88, 4636-40 (1991); Hu et al., Blood 101, 4853-4861 (2003) 及美国专利公开文本No. 2003/0124678; Shanafelt et al., Nature Biotechnol 18, 1197-1202 (2000); Heaton et al., Cancer Res 53, 2597-602 (1993) 及美国专利No. 5, 229, 109; 美国专利公开文本No. 2007/0036752; WO 2008/0034473; WO 2009/061853; 或WO 2012/107417中记载的IL-2变体。

[0152] 如本文中使用的, 术语“白介素-2”或“IL-2”指来自任何脊椎动物来源, 包括哺乳动物, 诸如灵长动物(例如人)和啮齿动物(例如小鼠和大鼠)的任何天然IL-2, 除非另外指明。该术语涵盖未加工的IL-2以及源自细胞中加工的任何形式的IL-2。该术语还涵盖IL-2的天然发生变体, 例如剪接变体或等位变体。一种例示性人IL-2的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:12。未加工的人IL-2另外包含在成熟IL-2分子中缺失的具有SEQ ID NO:31的序列的N端20个氨基酸的信号肽。如本文中使用的, 术语“白介素-2”意图还包括在相应野生型细胞因子的氨基酸序列中包含一处或多处氨基酸突变的IL-2变体, 诸如例如Sauvé et al., Proc Natl Acad Sci USA 88, 4636-40 (1991); Hu et al., Blood 101, 4853-4861 (2003) 和美国专利公开文本No. 2003/0124678; Shanafelt et al., Nature Biotechnol 18, 1197-1202 (2000); Heaton et al., Cancer Res 53, 2597-602 (1993) 和美国专利No. 5, 229, 109; 美国专利公开文本No. 2007/0036752; WO 2008/0034473; WO 2009/061853; 或WO 2012/107417中描述的IL-2变体。

[0153] 如本文中使用的, 术语“IL-2突变体”或“突变体IL-2多肽”意图涵盖各种形式的

IL-2分子的任何突变体形式,包括全长IL-2,截短形式的IL-2和IL-2诸如通过融合或化学缀合连接至另一分子的形式。当提及IL-2使用时,“全长”意图表示成熟,天然长度IL-2分子。例如,全长人IL-2指具有133个氨基酸的分子(见例如SEQ ID NO:12)。各种形式的IL-2突变体特征在于具有至少一处影响IL-2与CD25相互作用的氨基酸突变。此突变可牵涉正常情况下位于该位置的野生型氨基酸残基的替代,删除,截短或修饰。通过氨基酸替代获得的突变体是优选的。除非另外指明,IL-2突变体在本文中可称作IL-2突变体肽序列,IL-2突变体多肽,IL-2突变体蛋白质或IL-2突变体类似物。各种形式的IL-2的命名在本文中是就SEQ ID NO:12中显示的序列而言进行的。可以在本文中使用多种命名来指示同一突变。例如,位置42处的苯丙氨酸变成丙氨酸的突变可以以42A,A42,A₄₂,F42A,或Phe42Ala标示。

[0154] 如本文中使用的,术语“释放细胞因子”,“细胞因子的释放”或“细胞因子释放”与“细胞因子风暴”或“细胞因子释放综合征”(缩写为“CRS”)同义,而且指施用治疗剂期间或之后不久(例如1天内)受试者的血液中细胞因子,特别是肿瘤坏死因子阿尔法(TNF- α),干扰素伽马(IFN- γ),白介素-6(IL-6),白介素-10(IL-10),白介素-2(IL-2)和/或白介素-8(IL-8)的水平升高,导致不良症状。细胞因子释放是一类输注相关反应(IRR),它们是针对治疗剂的常见不良反应且适时地涉及治疗剂的施用。IRR典型地施用治疗剂期间或之后不久发生,即典型地在输注后24小时内,主要在第一次输注时。在一些情况中,例如在施用CAR-T细胞之后,CRS还能只在稍后发生,例如施用后数天在CAR-T细胞扩充后。发生率和严重性典型地随后续输注而降低。症状的范围可以是有症状的不适至致命事件,而且可以包括发热,寒战,头晕,高血压,低血压,呼吸困难,坐立不安,出汗,面红,皮疹,心动过速,呼吸急促,头痛,肿瘤疼痛,恶心,呕吐和/或器官衰竭。

[0155] 如本文中使用的,术语“氨基酸突变”意为涵盖氨基酸取代,缺失,插入和修饰。可以进行取代,缺失,插入和修饰的任意组合来实现最终构建体,只要最终构建体拥有期望的特性,例如降低的对CD25或对Fc受体的结合。氨基酸序列缺失和插入包括氨基和/或羧基端缺失和氨基酸插入。具体的氨基酸突变是氨基酸取代。为了改变例如IL-2多肽或Fc区的结合特征,特别优选非保守性的氨基酸取代,即将一个氨基酸用具有不同结构和/或化学特性的另一种氨基酸替换。氨基酸取代包括由非天然存在的氨基酸或由20种标准氨基酸的天然存在的氨基酸衍生物(例如4-羟脯氨酸,3-甲基组氨酸,鸟氨酸,高丝氨酸,5-羟赖氨酸)替换。可以使用本领域中公知的遗传或化学方法生成氨基酸突变。遗传方法可以包括定点诱变,PCR,基因合成等。通过与遗传工程化不同的方法如化学修饰来改变氨基酸侧链基团的方法也可能可用。本文中可使用各种名称来指示同一氨基酸突变。例如,从Fc区第329位脯氨酸到甘氨酸的取代可指示为329G,G329,G₃₂₉,P329G或Pro329Gly。

[0156] 如本文中使用的,术语“CD25”或“IL-2受体的 α 亚基”指来自任何脊椎动物来源,包括哺乳动物,诸如灵长动物(例如人)和啮齿动物(例如小鼠和大鼠)的任何天然CD25,除非另外指明。该术语涵盖“全长”,未加工的CD25以及源自细胞中加工的任何形式的CD25。该术语还涵盖CD25的天然发生变体,例如剪接变体或等位变体。在某些实施方案中,CD25是人CD25。人CD25的氨基酸序列显示于UniProt (www.uniprot.org) 登录号P01589,或NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov/) RefSeq NP_000408。

[0157] 如本文中使用的,术语“高亲和力IL-2受体”指由受体 γ 亚基(也称作共同细胞因子受体 γ 亚基, γ_c ,或CD132),受体 β 亚基(也称作CD122或p70)和受体 α 亚基(也称作CD25或

p55)组成的异三聚体形式的IL-2受体。对比而言,术语“中等亲和力IL-2受体”指仅仅包括 γ 亚基和 β 亚基,没有 α 亚基的IL-2受体(综述参见例如Olejniczak and Kasprzak, Med Sci Monit 14, RA179-189 (2008))。

[0158] “亲和力”指分子(例如受体)的单一结合位点与其结合配偶体(例如配体)之间非共价相互作用总和的强度。除非另外指示,如本文中使用的,“结合亲和力”指反映结合对的成员(例如受体和配体)之间1:1相互作用的内在结合亲和力。分子X对其配偶体Y的亲和力通常可以用解离常数(K_D)来表述,其为解离与结合速率常数(分别为 k_{off} 和 k_{on})的比率。如此,相等的亲和力可能包含不同的速率常数,只要速率常数的比率保持相同。亲和力可以通过本领域知道的确立方法来测量。用于测量亲和力的具体方法是表面等离子共振(SPR)。

[0159] “降低”(及其语法变型,诸如“缩小”或“减轻”),例如B细胞的数目或ADA形成或细胞因子释放降低,指通过本领域已知的适宜方法测量的相应数量的降低。为了清楚起见,该术语还包括降低至零(或低于分析方法的检测限),即完全消除或消除。相反,“升高”指相应数量的升高。

[0160] “调节性T细胞”或“ T_{reg} 细胞”意指一种能遏制其它T细胞的应答的专门化类型的 $CD4^+$ T细胞。 T_{reg} 细胞特征在于表达IL-2受体的 α 亚基(CD25)和转录因子叉头盒(forkhead box)P3(FOXP3)(Sakaguchi, Annu Rev Immunol 22, 531-62 (2004))且在诱导和维持针对抗原(包括那些由肿瘤表达的)的外周自我耐受中发挥至关重要作用。 T_{reg} 细胞需要IL-2来实现它们的功能和发育及诱导它们的遏制性特征。

[0161] 如本文中使用的,术语“抗原结合模块”指特异性结合抗原性决定簇的多肽分子。在一个实施方案中,抗原结合模块能够将它附着的实体(例如细胞因子或第二抗原结合模块)引导至靶位点(例如携带该抗原性决定簇的特定类型的肿瘤细胞或肿瘤基质)。抗原结合模块包括抗体和其片段,如本文中进一步定义的。优选的抗原结合模块包括抗体的抗原结合域,其包含抗体重链可变区和抗体轻链可变区。在某些实施方案中,抗原结合模块可包括抗体恒定区,如本文中进一步定义的和本领域已知的。有用的重链恒定区包括五种同种型任一: α , δ , ϵ , γ , 或 μ 。有用的轻链恒定区包括两种同种型任一: κ 和 λ 。

[0162] “特异性结合”意指结合对于抗原是选择性的,并且能与不想要的或非特异性的相互作用区别开来。抗原结合模块结合特定抗原决定簇的能力可以经由酶联免疫吸附测定法(ELISA)或本领域技术人员熟知的其它技术,例如表面等离子共振技术(在BIAcore仪器上分析)(Liljeblad et al., Glyco J 17, 323-329 (2000)),以及传统的结合测定法(Heeley, Endocr Res 28, 217-229 (2002))来测量。

[0163] 如本文中使用的,术语“抗原决定簇”与“抗原”和“表位”同义,并且指多肽大分子上与抗原结合模块结合,从而形成抗原结合模块-抗原复合物的位点(例如氨基酸的连续区段或由不同的非连续氨基酸区构成的构象性构造)。可用的抗原决定簇可见于例如肿瘤细胞表面上,病毒感染的细胞的表面上,其它患病细胞的表面上,游离在血液血清中和/或在胞外基质(ECM)中。

[0164] 如本文中使用的,术语“多肽”指由通过酰胺键(也称作肽键)线性连接的单体(氨基酸)构成的分子。术语“多肽”指具有两个或更多个氨基酸的任何链,并且不指特定长度的产物。如此,肽,二肽,三肽,寡肽,“蛋白质”,“氨基酸链”或任何其它用于指具有两个或更多个氨基酸的链的术语均包括在“多肽”的定义中,而且术语“多肽”可以代替这些术语中任一

个或与其交换使用。术语“多肽”还意图指多肽的表达后修饰的产物,包括但不限于糖基化,乙酰化,磷酸化,酰化,通过已知的保护性/封闭性基团衍生化,蛋白水解切割,或通过非天然存在的氨基酸的修饰。多肽可以自天然的生物学来源衍生或通过重组技术生成,但不必从指定的核酸序列翻译。它可以以任何方式来生成,包括通过化学合成。本发明的多肽大小可以是约3个或更多,5个或更多,10个或更多,20个或更多,25个或更多,50个或更多,75个或更多,100个或更多,200个或更多,500个或更多,1,000个或更多,或2,000个或更多的氨基酸。多肽可以具有限定的三维结构,尽管它们不必具有此类结构。具有限定的三维结构的多肽被称作折叠的,而不具有限定的三维结构而可以采用大量不同构象的多肽被称作未折叠的。

[0165] “分离的”多肽或其变体或衍生物意图为不处于其天然环境中的多肽。不需要特定水平的纯化。例如,分离的多肽可以是从其天然或自然环境中取出。就本发明的目的而言,在宿主细胞中表达的重组生成的多肽和蛋白质被视为分离的,已通过任何合适的技术分开,分级,或部分或基本上纯化的天然的或重组的多肽也是如此。

[0166] 关于参照多肽序列的“百分比(%)氨基酸序列同一性”定义为在比对序列并在必要时引入缺口以获取最大百分比序列同一性后,且不将任何保守性取代视为序列同一性的一部分时,候选序列中与参照多肽序列中的氨基酸残基相同的氨基酸残基的百分比。为测定百分比氨基酸序列同一性目的比对可以以本领域技术范围内的多种方式进行,例如使用公众可得到的计算机软件,如BLAST,BLAST-2,ALIGN或Megalign (DNASTAR) 软件。本领域技术人员可决定用于比对的适宜参数,包括在比较序列的全长里获得最大比对需要的任何算法。然而,就本文中目的而言,使用序列比较计算机程序ALIGN-2来生成%氨基酸序列同一性值。ALIGN-2序列比较计算机程序由Genentech, Inc. 创作,并且源代码已与用户文档一起提交到美国版权局 (U.S. Copyright Office), Washington D.C., 20559, 其在美国版权注册No. TXU510087下注册。ALIGN-2程序可从Genentech, Inc., South San Francisco, California公开获得,或可从源代码汇编。ALIGN-2程序应当汇编用于UNIX操作系统,包括数字UNIX V4.0D。所有序列比较参数均由ALIGN-2程序设定且不改变。在采用ALIGN-2进行氨基酸序列比较的情况下,给定的氨基酸序列A对/与/相对给定的氨基酸序列B的%氨基酸序列同一性(或其可以用短语表示为对/与/相对给定的氨基酸序列B具有或包含特定%氨基酸序列同一性的给定氨基酸序列A) 如下计算:

[0167] 分数 X/Y 的100倍

[0168] 其中X是由序列比对程序ALIGN-2在所述程序对A和B的比对中评为相同匹配的氨基酸残基数,而其中Y是B中氨基酸残基的总数。会领会的是,当氨基酸序列A的长度不等于氨基酸序列B的长度时,A对B的%氨基酸序列同一性将不等于B对A的%氨基酸序列同一性。除非另外明确说明,本文中使用的所有%氨基酸序列同一性值如在上一段中描述的那样使用ALIGN-2计算机程序获得。

[0169] 如本文中使用的,术语“效应器模块”指例如经由信号转导或其它细胞途径影响细胞活性的多肽例如蛋白质或糖蛋白。因此,效应器模块可与受体介导的信号传导关联,该信号传导从细胞膜外部传递信号以调控携带一种或多种针对该效应器模块的受体的细胞中的应答。在一个实施方案中,效应器模块能引发携带一种或多种针对该效应器模块的受体的细胞中的细胞毒性应答。在另一个实施方案中,效应器模块能引发携带一种或多种针对

该效应器模块的受体的细胞中的增殖性应答。在另一个实施方案中,效应器模块能引发携带针对该效应器模块的受体的细胞中的分化。在另一个实施方案中,效应器模块能改变携带针对该效应器模块的受体的细胞中内源性细胞蛋白质的表达(即上调或下调)。效应器模块的非限制性例子包括细胞因子,生长因子,激素,酶,底物和辅因子。效应器模块可以以多种构造与抗原结合模块诸如抗体联合以形成免疫缀合物。

[0170] 如本文中使用的,术语“细胞毒剂”指抑制或防止细胞功能和/或引起细胞死亡或破坏的物质。细胞毒剂包括但不限于放射性同位素(例如 At^{211} , I^{131} , I^{125} , Y^{90} , Re^{186} , Re^{188} , Sm^{153} , Bi^{212} , P^{32} , Pb^{212} , 和Lu的放射性同位素);化疗剂或化疗药物(例如甲氨蝶呤(methotrexate),阿霉素(adriamycin),长春花生物碱类(vinca alkaloids)(长春新碱(vincristine),长春碱(vinblastine),依托泊苷(etoposide)),多柔比星(doxorubicin),美法仑(melphalan),丝裂霉素(mitomycin)C,苯丁酸氮芥(chlorambucil),柔红霉素(daunorubicin)或其它嵌入剂);生长抑制剂;酶及其片段,诸如溶核酶;抗生素;毒素,诸如小分子毒素或者细菌,真菌,植物或动物起源的酶活毒素,包括其片段和/或变体;及下文披露的各种抗肿瘤药或抗癌药。

[0171] 术语“抗体”在本文中以最广义使用且涵盖各种抗体结构,包括但不限于单克隆抗体,多克隆抗体,多特异性抗体(例如双特异性抗体),和抗体片段,只要它们展现出期望的抗原结合活性。

[0172] 术语“全长抗体”和“完整抗体”在本文中可互换使用,指具有与天然抗体结构实质性相似的结构或具有含有本文中定义的Fc区的重链的抗体。

[0173] “抗体片段”指完整抗体外的分子,其包含完整抗体中结合与完整抗体结合的抗原的一部分。抗体片段的例子包括但不限于Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, 双抗体, 线性抗体, 单链抗体分子(例如scFv), 和自抗体片段形成的多特异性抗体。如本文中使用的,术语“抗体片段”还涵盖单域抗体。

[0174] 术语“免疫球蛋白分子”指具有天然存在的抗体结构的蛋白质。例如, IgG类的免疫球蛋白是约150,000道尔顿的异四聚体糖蛋白,其由二硫键连接的两条轻链和两条重链构成。从N端至C端,每条重链具有可变区(VH,也称为可变重域或重链可变域),接着是3个恒定域(CH1, CH2和CH3,也称为重链恒定区)。类似地,从N端至C端,每条轻链具有可变区(VL,也称为可变轻域或轻链可变域),接着是恒定轻(CL)域(也称为轻链恒定区)。免疫球蛋白的重链可以归入称为 α (IgA), δ (IgD), ϵ (IgE), γ (IgG) 或 μ (IgM) 的5类之一,其中一些可以进一步分成亚类,例如 γ_1 (IgG₁), γ_2 (IgG₂), γ_3 (IgG₃), γ_4 (IgG₄), α_1 (IgA₁) 和 α_2 (IgA₂)。基于其恒定域的氨基酸序列,免疫球蛋白的轻链可以归入称为卡帕(κ)和拉姆达(λ)的两类之一。免疫球蛋白基本由经由免疫球蛋白铰链区连接的两个Fab分子和Fc域组成。

[0175] 术语“抗原结合域”指包含特异性结合部分或整个抗原且与其互补的区域的抗体部分。抗原结合域可由例如一个或多个抗体可变域(也称为抗体可变区)提供。优选地,抗原结合域包含抗体轻链可变区(VL)和抗体重链可变区(VH)。

[0176] 术语“可变区”或“可变域”指牵涉抗体对抗原结合的抗体重链或轻链的域。天然抗体的重链和轻链的可变域(分别为VH和VL)一般具有类似的结构,每个域包含4个保守的框架区(FR)和3个高变区(HVR)。参见,例如Kindt et al., Kuby Immunology, 6th ed., W.H. Freeman and Co., page 91 (2007)。单个VH或VL域可能足以赋予抗原结合特异性。

[0177] “人抗体”指拥有与由人或人细胞生成的或利用人抗体全集或其它人抗体编码序列自非人来源衍生的抗体的氨基酸序列对应的氨基酸序列的抗体。人抗体的此定义明确排除包含非人抗原结合残基的人源化抗体。

[0178] “人源化”抗体指包含来自非人HVR的氨基酸残基和来自人FR的氨基酸残基的嵌合抗体。在某些实施方案中,人源化抗体会包含至少一个,通常两个基本上整个可变域,其中所有或基本上所有HVR(例如,CDR)对应于非人抗体的那些,且所有或基本上所有FR对应于人抗体的那些。任选地,人源化抗体可以至少包含自人抗体衍生的抗体恒定区的一部分。抗体(例如非人抗体)的“人源化形式”指已经经历人源化的抗体。

[0179] 如本文中使用的,术语“高变区”或“HVR”指抗体可变域中在序列上高变的(“互补决定区”或“CDR”)和/或形成结构上定义的环的(“高变环”)和/或含有抗原接触残基的(“抗原接触”)每一个区域。一般地,抗体包含6个HVR;三个在VH中(H1,H2,H3),且三个在VL中(L1,L2,L3)。本文中的例示性HVR包括:

[0180] (a) 高变环,其存在于氨基酸残基26-32(L1),50-52(L2),91-96(L3),26-32(H1),53-55(H2),和96-101(H3)(Chothia and Lesk,J.Mol.Biol.196:901-917(1987));

[0181] (b) CDR,其存在于氨基酸残基24-34(L1),50-56(L2),89-97(L3),31-35b(H1),50-65(H2),和95-102(H3)(Kabat et al.,Sequences of Proteins of Immunological Interest,5th Ed.Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD(1991));

[0182] (c) 抗原接触,其存在于氨基酸残基27c-36(L1),46-55(L2),89-96(L3),30-35b(H1),47-58(H2),和93-101(H3)(MacCallum et al.J.Mol.Biol.262:732-745(1996));和

[0183] (d) (a), (b), 和/或(c)的组合,包括HVR氨基酸残基46-56(L2),47-56(L2),48-56(L2),49-56(L2),26-35(H1),26-35b(H1),49-65(H2),93-102(H3),和94-102(H3)。

[0184] 除非另外指明,可变域中的HVR残基和其它残基(例如FR残基)在本文中依照Kabat等,见上文编号。

[0185] “框架”或“FR”指除高变区(HVR)残基外的可变域残基。可变域的FR一般由4个FR域组成:FR1,FR2,FR3和FR4。因此,HVR和FR序列一般以下列顺序出现在VH(或VL)中:FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4。

[0186] 抗体的“类”指其重链具有的恒定域或恒定区的类型。抗体有5种主要的类:IgA,IgD,IgE,IgG和IgM,并且其中数种可以进一步分成亚类(同种型),例如IgG₁,IgG₂,IgG₃,IgG₄,IgA₁和IgA₂。对应于不同免疫球蛋白类的重链恒定域分别称为 α , δ , ϵ , γ 和 μ 。

[0187] 本文中术语“Fc域”或“Fc区”用于定义免疫球蛋白重链中至少含有恒定区的一部分的C端区域。该术语包括天然序列Fc区和变体Fc区。虽然IgG重链的Fc区的边界可以略微变化,但是人IgG重链Fc区通常定义为自Cys226或Pro230延伸至重链的羧基端。然而,由宿主细胞生成的抗体可能经历翻译后切割,自重链的C端切除一个或多个,特别是一个或两个氨基酸。因此,通过表达编码全长重链的特定核酸分子由宿主细胞生成的抗体可包括全长重链,或者它可包括全长重链的切割变体(在本文中也称作“切割变体重链”)。当重链的最终两个C端氨基酸是甘氨酸(G446)和赖氨酸(K447,编号方式依照Kabat EU索引)时可能就是这种情况。因此,Fc区的C端赖氨酸(Lys447),或C端甘氨酸(Gly446)和赖氨酸(K447)可以存在或不存在。除非本文中另外指定,Fc区或恒定区中氨基酸残基的编号方式依照EU编号

系统,也称为EU索引,如记载于Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991的(还可参见上文)。如本文中使用的, Fc域的“亚基”指形成二聚体Fc域的两个多肽之一,即包含免疫球蛋白重链中能够稳定自身联合的C端恒定区的多肽。例如, IgG Fc域的亚基包含IgG CH2和IgG CH3恒定域。

[0188] “促进异二聚化的修饰”是降低或防止多肽(例如免疫球蛋白重链)与相同多肽联合以形成同二聚体的肽主链操作或多肽的翻译后修饰。如本文中使用的,具体地,促进异二聚化的修饰包括对期望形成二聚体的两个多肽中的每一个进行的分开的修饰,其中所述修饰彼此互补,从而促进两个多肽的联合。例如,促进异二聚化的修饰可以改变期望形成二聚体的一个或两个多肽的结构或电荷,从而在立体或静电上分别促进它们的联合。异二聚化在两个不相同的多肽如两个免疫球蛋白重链之间发生,其中与每个重链融合的别的免疫缀合物组分(例如IL-2多肽)是不相同的。在本发明中有用的免疫缀合物中,促进异二聚化的修饰在免疫球蛋白分子的重链中,具体在Fc域中。在一些实施方案中,促进异二聚化的修饰包含氨基酸突变,具体为氨基酸取代。在一个具体的实施方案中,促进异二聚化的修饰包含两个免疫球蛋白重链的每一个中分开的氨基酸突变,具体为氨基酸取代。

[0189] 类似地,“促进Fc域的第一亚基和第二亚基联合的修饰”是降低或防止包含Fc域亚基的多肽与相同多肽联合以形成同二聚体的肽主链操作或Fc域亚基的翻译后修饰。如本文中使用的,具体地,促进联合的修饰包括对期望联合的两个Fc域亚基(即Fc域的第一和第二亚基)中的每一个进行的分开的修饰,其中所述修饰彼此互补,从而促进两个Fc域亚基的联合。例如,促进联合的修饰可以改变两个Fc域亚基之一或二者的结构或电荷,从而在立体或静电上分别促进它们的联合。如此,(异)二聚化在包含第一Fc域亚基的多肽和包含第二Fc域亚基的多肽之间发生,其在融合至每个亚基的别的组分(例如抗原结合模块)不同这一意义上讲可能是不相同的。在一些实施方案中,促进联合的修饰包含在Fc域中的氨基酸突变,具体为氨基酸替代。在一个具体的实施方案中,促进联合的修饰包含Fc域的两个亚基的每一个中分开的氨基酸突变,具体为氨基酸替代。

[0190] “活化性Fc受体”是一种在抗体的Fc区衔接后,引发刺激携带该受体的细胞实施效应器功能的信号传导事件的Fc受体。活化性Fc受体包括Fc γ RIIIa (CD16a), Fc γ RI (CD64), Fc γ RIIa (CD32) 和Fc α RI (CD89)。

[0191] 术语“效应器功能”在提及抗体使用时指那些可归于抗体Fc区且随抗体同种型而变化的生物学活性。抗体效应器功能的例子包括:C1q结合和补体依赖性细胞毒性(CDC), Fc受体结合,抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC),抗体依赖性细胞吞噬作用(ADCP),细胞因子分泌,免疫复合物介导的抗原呈递细胞的抗原摄取,细胞表面受体(例如B细胞受体)下调和B细胞活化。

[0192] 如本文中使用的,术语“效应细胞”指如下的一群淋巴细胞,它们在它们的表面上展示效应器模块受体(例如细胞因子受体)和/或Fc受体,它们经由所述受体结合效应器模块(例如细胞因子)和/或抗体的Fc区并促成对靶细胞(例如肿瘤细胞)的破坏。例如,效应细胞可介导细胞毒性或吞噬效应。效应细胞包括但不限于效应T细胞诸如CD8⁺细胞毒性T细胞, CD4⁺辅助T细胞, γ δ T细胞, NK细胞,淋巴因子激活的杀伤(LAK)细胞和巨噬细胞/单核细胞。

[0193] 如本文中使用的,术语“工程化/改造”视为包括对肽主链的任意操作或对天然存在或重组的多肽或其片段的翻译后修饰。工程化包括对氨基酸序列,糖基化模式或各氨基酸侧链基团的修饰,以及这些办法的组合。“工程化”,特别是具有前缀“糖”时,以及术语“糖基化工程化”包括细胞的糖基化装置的代谢工程化,包括对寡糖合成途径的遗传操作以实现细胞中表达的糖蛋白的改变的糖基化。此外,糖基化工程化包括突变和细胞环境对糖基化的影响。在一个实施方案中,糖基化工程化是糖基转移酶活性的改变。在一个具体的实施方案中,工程化导致改变的葡萄糖胺基转移酶活性和/或岩藻糖基转移酶活性。糖基化工程化可用于获得“具有增加的GnTIII活性的宿主细胞”(例如经过操作而表达升高水平的一种或多种具有 $\beta(1,4)$ -N-乙酰葡萄糖胺基转移酶III(GnTIII)活性的多肽的宿主细胞),“具有增加的ManII活性的宿主细胞”(例如经过操作而表达升高水平的一种或多种具有 α -甘露糖苷酶II(ManII)活性的多肽的宿主细胞)或“具有降低的 $\alpha(1,6)$ 岩藻糖基转移酶活性的宿主细胞”(例如经过操作而表达降低水平的 $\alpha(1,6)$ 岩藻糖基转移酶的宿主细胞)。

[0194] 术语“宿主细胞”,“宿主细胞系”和“宿主细胞培养物”可交换使用并指已引入外源核酸的细胞,包括这类细胞的后代。宿主细胞包括“转化体”和“经转化的细胞”,其包括初始转化的细胞和自其衍生的后代(不考虑传代数)。后代在核酸内含物上可能与亲本细胞不完全相同,但可以含有突变。本文中包括具有如原始转化细胞中筛选或选择的相同的功能或生物学活性的突变体后代。宿主细胞是能用于生成用于本发明的蛋白质的任意类型的细胞系统。在一个实施方案中,将宿主细胞工程化为允许生成具有经修饰寡糖的抗体。在某些实施方案中,操作宿主细胞为表达升高水平的一种或多种具有 $\beta(1,4)$ -N-乙酰葡萄糖胺基转移酶III(GnTIII)活性的多肽。在某些实施方案中,还操作宿主细胞为表达升高水平的一种或多种具有 α -甘露糖苷酶II(ManII)活性的多肽。宿主细胞包括培养的细胞,例如哺乳动物培养细胞如CHO细胞,BHK细胞,NS0细胞,SP2/0细胞,Y0骨髓瘤细胞,P3X63小鼠骨髓瘤细胞,PER细胞,PER.C6细胞或杂交瘤细胞,酵母细胞,昆虫细胞和植物细胞等,而且还包括在转基因动物,转基因植物或培养的植物或动物组织中包含的细胞。

[0195] 如本文中使用的,术语“具有GnTIII活性的多肽”指能够催化将N-乙酰葡萄糖胺(GlcNAc)残基以 $\beta-1,4$ 连接添加到N-连接的寡糖的三甘露糖基核心的 β -连接的甘露糖苷的多肽。这包括根据特定的生物学测定法的测量在有或无剂量依赖性的情况中展现出的酶活性类似于但不一定等同于 $\beta(1,4)$ -N-乙酰葡萄糖胺基转移酶III的活性的融合多肽,依照国际生物化学与分子生物学联盟命名委员会(NC-IUBMB), $\beta(1,4)$ -N-乙酰葡萄糖胺基转移酶III也称为 $\beta-1,4$ -甘露糖基-糖蛋白4- β -N-乙酰葡萄糖胺基转移酶(EC 2.4.1.144)。在确实存在剂量依赖性的情况中,其不需要等于GnTIII的,而是相比于GnTIII,基本类似于在给定活性的剂量依赖性(即,相对于GnTIII,候选多肽将展现出更大的活性或小不超过约25倍,而且优选地小不超过约10倍的活性,且最优选地,小不超过约3倍的活性)。在某些实施方案中,具有GnTIII活性的多肽是融合多肽,其包含GnTIII的催化域和异源高尔基(Golgi)驻留多肽的高尔基定位域。特定地,高尔基定位域是甘露糖苷酶II或GnTI的定位域,最特定地是甘露糖苷酶II的定位域。或者,高尔基定位域选自下组:甘露糖苷酶I的定位域,GnTII的定位域和 $\alpha1,6$ 核心岩藻糖基转移酶的定位域。用于生成这类融合多肽及使用它们来生成具有升高的效应器功能的抗体的方法在W02004/065540,美国临时专利申请No.60/495,142和美国专利申请公开文本No.2004/0241817中披露,其完整内容通过提述明确并入本文。

[0196] 如本文中使用的,术语“高尔基定位域”指高尔基驻留多肽中负责将多肽锚定到高尔基复合体内的位置的氨基酸序列。一般地,定位域包含酶的氨基端“尾部”。

[0197] 如本文中使用的,术语“具有ManII活性的多肽”指能够催化N-连接的寡糖的分支GlcNAcMan₅GlcNAc₂甘露糖中间物中末端1,3-和1,6-连接的 α -D-甘露糖残基的水解的多肽。这包括展现出的酶活性类似于但不一定等同于高尔基体 α -甘露糖苷酶II的活性的多肽,依照国际生物化学与分子生物学联盟命名委员会(NC-IUBMB), α -甘露糖苷酶II也称为甘露糖基寡糖1,3-1,6- α -甘露糖苷酶II(EC 3.2.1.114)。

[0198] 抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)是一种导致通过免疫效应细胞对抗体包被的靶细胞裂解的免疫机制。靶细胞是包含Fc区的抗体或其片段一般经由Fc区的N端的蛋白质部分特异性结合的细胞。如本文中使用的,术语“升高/降低的ADCC”定义为通过上文定义的ADCC机制,以靶细胞周围介质中给定浓度的抗体,在给定的时间内裂解的靶细胞数目的增加/减少,和/或通过ADCC机制,实现给定时间内给定数目的靶细胞裂解需要的靶细胞周围介质中抗体浓度的降低/升高。ADCC的升高/降低相对于使用相同的标准生产,纯化,配制和贮存方法(其是本领域技术人员已知的),由同一类型的宿主细胞生成但尚未工程化改造的相同抗体介导的ADCC。例如,由通过本文中描述的方法工程化改造为具有改变的糖基化模式(例如表达糖基转移酶,GnTIIII或其它糖基转移酶)的宿主细胞生成的抗体介导的ADCC的升高,是相对于由同一类型的未工程化宿主细胞生成的相同抗体介导的ADCC而言。

[0199] “具有升高/降低的抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)的抗体”意指一种具有升高/降低的ADCC的抗体,如通过本领域普通技术人员已知的任何合适的方法测定的。一种公认的体外ADCC测定法如下:

[0200] 1) 该测定法使用已知表达由抗体的抗原结合区识别的靶抗原的靶细胞;

[0201] 2) 该测定法使用从随机选择的健康供体的血液分离的人外周血单个核细胞(PBMC)作为效应细胞;

[0202] 3) 该测定法依照以下方案实施:

[0203] i) 使用标准的密度离心规程分离PBMC,并以 5×10^6 个细胞/ml悬浮于RPMI细胞培养基中;

[0204] ii) 通过标准的组织培养方法培养靶细胞,从存活率高于90%的指数生长阶段收获,在RPMI细胞培养基中清洗,用100微居里⁵¹Cr标记,并用细胞培养基清洗2次,并以 10^5 个细胞/ml的密度重悬于细胞培养基中;

[0205] iii) 将100微升的上述最终靶细胞悬液转移至96孔微量滴定板的每个孔;

[0206] iv) 在细胞培养基中将抗体从4000ng/ml连续稀释至0.04ng/ml,并将50微升所得抗体溶液添加至96孔微量滴定板中的靶细胞,以一式三份测试覆盖上述整个浓度范围的各种抗体浓度;

[0207] v) 对于最大释放(MR)对照,在含有经标记的靶细胞的板中3个另外的孔接受50微升非离子型去污剂(Nonidet, Sigma, St. Louis)的2% (V/V) 水性溶液,代替抗体溶液(上述第iv点);

[0208] vi) 对于自发性释放(SR)对照,在含有经标记的靶细胞的板中3个另外的孔接受50微升RPMI细胞培养基,代替抗体溶液(上述第iv点);

[0209] vii) 然后将96孔微量滴定板以50 x g离心1分钟并在4℃温育1小时;

[0210] viii) 将50微升PBMC悬液(上述第i点)添加至每孔以得到25:1的效应细胞:靶细胞比率,并将板在5%CO₂气氛下置于培养箱中于37℃达4小时;

[0211] ix) 收获来自每孔的无细胞上清液,并使用γ计数器量化实验释放的放射性(ER);

[0212] x) 依照公式 $(ER-MR)/(MR-SR) \times 100$ 对每一抗体浓度计算特定裂解的百分比,其中ER是对该抗体浓度量化的平均放射性(见上述第ix点),MR是对MR对照(见上述第v点)量化的平均放射性(见上述第ix点),而SR是对SR对照(见上述第vi点)量化的平均放射性(见上述第ix点);

[0213] 4) “升高/降低的ADCC”定义为在上文测试的抗体浓度范围内观察到的比裂解的最大百分比的增加/减少,和/或实现上文测试的抗体浓度范围内观察到的比裂解的最大百分比的一半需要的抗体浓度的降低/升高。ADCC的升高/降低相对于用上述测定法测量的,使用本领域技术人员已知的相同的标准生成,纯化,配制和贮存方法,由相同类型的宿主细胞产生的,但是尚未工程化改造的相同抗体介导的ADCC。

[0214] 如本文中使用的,术语“免疫缀合物”指多肽分子,其包含至少一个效应器模块,诸如细胞因子,和抗原结合模块,诸如抗体。在某些实施方案中,所述免疫缀合物包含不多于一个效应器模块。在本发明中有用的具体免疫缀合物基本由通过一个或多个肽接头连接的一个效应器模块和抗体组成。依照本发明的具体免疫缀合物是融合蛋白,即免疫缀合物的组分通过肽键连接。

[0215] 如本文中使用的,术语“单克隆抗体”指从一群基本上同质的抗体获得的抗体,即构成群体的各个抗体是相同的和/或结合相同表位,除了例如含有天然存在的突变或在单克隆抗体制备物的生成期间发生的可能的变体抗体外,此类变体一般以极小量存在。与通常包含针对不同决定簇(表位)的不同抗体的多克隆抗体制备物不同,单克隆抗体制备物的每个单克隆抗体针对抗原上的单一决定簇。如此,修饰语“单克隆”指示抗体自一群基本上同质的抗体获得的特性,而不应解释为要求通过任何特定方法来生成抗体。例如,可以通过多种技术来生成要依照本发明使用的单克隆抗体,包括但不限于杂交瘤方法,重组DNA方法,噬菌体展示方法,和利用含有所有或部分人免疫球蛋白基因座的转基因动物的方法,本文中描述的用于生成单克隆抗体的此类方法和其它例示性方法。

[0216] 如本文中使用的,术语“第一”,“第二”,“第三”等就抗原结合模块等而言为了在有超过一个每类模块时便于区分而使用。除非明确如此陈述,这些术语的使用不意图赋予特定次序或取向。

[0217] 术语“多特异性”和“双特异性”意指抗原结合分子能够特异性结合至少两种不同的抗原性决定簇。通常,双特异性抗原结合分子包含两种抗原结合位点,其中每种特异于不同的抗原性决定簇。在某些实施方案中,双特异性抗原结合分子能够同时结合两种抗原性决定簇,特别是在两种不同的细胞上表达的两种抗原性决定簇。

[0218] 如本文中使用的,术语“价”指抗原结合分子中规定数目的抗原结合位点的存在。因而,术语“对抗原的单价结合”指抗原结合分子中一个(且不超过一个)特异于抗原的抗原结合位点的存在。

[0219] “抗原结合位点”指抗原结合分子上提供与抗原相互作用的位点,即一个或多个氨基酸残基。例如,抗体的抗原结合位点包含来自互补性决定区(CDR)的氨基酸残基。天然的免疫球蛋白分子通常具有两个抗原结合位点,Fab分子通常具有单个抗原结合位点。

[0220] 如本文中使用的,“T细胞活化性治疗剂”指能够在受试者中诱导T细胞活化的治疗剂,特别是为在受试者中诱导T细胞活化而设计的治疗剂。T细胞活化性治疗剂的例子包括特异性结合活化性T细胞抗原,诸如CD3,和靶细胞抗原,诸如CD20或CD19的双特异性抗体。别的例子包括包含T细胞活化性域和特异性结合靶细胞抗原,诸如CD20或CD19的抗原结合模块的嵌合抗原受体(CAR)。

[0221] 如本文中使用的,“活化性T细胞抗原”指由T淋巴细胞,特别是细胞毒性T淋巴细胞表达的抗原性决定簇,其在与抗原结合分子相互作用后能诱导或增强T细胞活化。特别地,抗原结合分子与活化性T细胞抗原的相互作用可诱导T细胞活化,其通过触发T细胞受体复合物的信号传导级联进行。一种例示性活化性T细胞抗原是CD3。

[0222] 如本文中使用的,“T细胞活化”指T淋巴细胞,特别是细胞毒性T淋巴细胞的一种或多种细胞应答,其选自:增殖,分化,细胞因子分泌,细胞毒性效应分子释放,细胞毒性活性和活化标志物的表达。本发明中使用的T细胞活化性双特异性抗原结合分子和T细胞活化性治疗剂能够诱导T细胞活化。合适的测量T细胞活化的测定法是本文中所述技术领域已知的。

[0223] 如本文中使用的,“靶细胞抗原”指靶细胞表面上呈现的抗原性决定簇,所述靶细胞例如肿瘤中的细胞如癌细胞或肿瘤基质的细胞。

[0224] 如本文中使用的,“B细胞抗原”指B淋巴细胞,特别是恶性B淋巴细胞(在该情况中,该抗原也称作“恶性B细胞抗原”)的表面上呈现的抗原性决定簇。

[0225] 如本文中使用的,“T细胞抗原”指T淋巴细胞,特别是细胞毒性T淋巴细胞的表面上呈现的抗原性决定簇。

[0226] “Fab分子”指由免疫球蛋白的重链(“Fab重链”)的VH和CH1域以及轻链(“Fab轻链”)的VL和CL域组成的蛋白质。

[0227] “嵌合抗原受体”或“CAR”意指经遗传工程改造的受体蛋白,其包含抗原结合模块,例如靶向性抗体的单链可变片段(scFv),跨膜域,细胞内T细胞活化性信号传导域(例如T细胞受体的CD3 zeta链)和任选的一个或多个细胞内共刺激域(例如CD28,CD27,CD137(4-1BB),Ox40的)。CAR介导抗原识别,T细胞活化,和—在第二代CAR的情况中—提升T细胞功能性和持久性的共刺激。综述参见例如Jackson et al.,Nat Rev Clin Oncol (2016) 13,370-383。

[0228] “B细胞增殖性病症”意指如下的疾病,其中患者中B细胞的数目与健康受试者中B细胞的数目相比升高,和特别是其中B细胞数目增多是疾病的起因或标志。“CD20阳性B细胞增殖性病症”是如下的B细胞增殖性病症,其中B细胞,特别是恶性B细胞(在正常B细胞以外),表达CD20。

[0229] 例示性B细胞增殖性病症包括非霍奇金淋巴瘤(NHL),急性淋巴细胞性白血病(ALL),慢性淋巴细胞性白血病(CLL),弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL),滤泡性淋巴瘤(FL),套细胞淋巴瘤(MCL),边缘区淋巴瘤(MZL),以及一些类型的多发性骨髓瘤(MM)和霍奇金淋巴瘤(HL)。

[0230] “融合”意指组分(例如Fab分子和Fc域亚基)直接地或经由一种或多种肽接头通过肽键连接。

[0231] “抗药物抗体”或“ADA”指结合治疗剂且可能影响该治疗剂在受试者中的血清浓度

和功能的抗体。ADA的存在可能经由治疗剂和抗体(中和性,非中和性或二者)之间免疫复合物的形成提高治疗剂的清除,如此缩短治疗剂的半衰期。而且,治疗剂的活性和有效性可以经由抗体结合治疗剂(特别是在中和性ADA的情况中)而降低。ADA还可能与变应性或超敏感性反应和其它不良事件相关。

[0232] 药剂的“有效量”指引起接受其施用的细胞或组织中的生理学变化必需的量。

[0233] 药剂例如药物组合物的“治疗有效量”指有效实现期望的治疗或预防结果的量(以必要的剂量且持续必要的时间)。治疗有效量的药剂例如消除,降低,延迟,最小化或预防疾病的不良作用。

[0234] “治疗剂”意指活性组分,例如药物组合物的,其施用于受试者,试图改变所治疗的受试者中疾病的天然过程,而且可以为了预防或在临床病理学过程期间实施。“免疫治疗剂”指施用于受试者,试图恢复或增强受试者的免疫应答(例如针对肿瘤的)的治疗剂。

[0235] “个体”或“受试者”是哺乳动物。哺乳动物包括但不限于驯养的动物(例如牛,绵羊,猫,犬和马),灵长类(例如人和非人灵长类如猴),家兔和啮齿动物(例如小鼠和大鼠)。优选地,所述个体或受试者是人。

[0236] 术语“药物组合物”指其形式使得容许其中含有的活性成分的生物学活性有效,且不含对会接受组合物施用的受试者有不可接受的毒性的别的成分的制剂。

[0237] “药学可接受载剂”指药物组合物中活性成分以外对受试者无毒的成分。药学可接受载剂包括但不限于缓冲剂,赋形剂,稳定剂或防腐剂。

[0238] 如本文中使用的,“治疗/处理”(及其语法变体)指试图改变治疗个体中疾病的自然进程,并且可以是为了预防或在临床病理学的过程期间实施的临床干预。治疗的期望效果包括但不限于预防疾病的发生或复发,缓解症状,降低疾病的任何直接或间接病理学后果,预防转移,减缓疾病进展率,改善或减轻疾病状态,及消退或改善的预后。在一些实施方案中,本发明的方法用于延迟疾病的形成或延缓病症的进展。

[0239] 术语“包装插页”用于指治疗产品的商业化包装中通常含有的说明书,其含有关于适应症,使用,剂量,施用,组合法,禁忌症的信息和/或关于使用这类治疗产品的警告。

[0240] “CD3”指来自任何脊椎动物来源,包括哺乳动物,诸如灵长动物(例如人),非人灵长动物(例如食蟹猴)和啮齿动物(例如小鼠和大鼠)的任何天然CD3,除非另外指明。该术语涵盖“全长”,未加工的CD3以及源自细胞中加工的任何形式的CD3。该术语还涵盖CD3的天然发生变体,例如剪接变体或等位变体。在一个实施方案中,CD3是人CD3,特别是人CD3的 ϵ 亚基(CD3 ϵ)。人CD3 ϵ 的氨基酸序列显示于UniProt(www.uniprot.org)登录号P07766(型式144),或NCBI(www.ncbi.nlm.nih.gov/)RefSeq NP_000724.1。还见SEQ ID NO:115。食蟹猴[*Macaca fascicularis*]CD3 ϵ 的氨基酸序列显示于NCBI GenBank No.BAB71849.1。还见SEQ ID NO:116。

[0241] “CD19”指B淋巴细胞抗原CD19,也称作B淋巴细胞表面抗原B4或T细胞表面抗原Leu-12,而且包括来自任何脊椎动物来源,包括哺乳动物,诸如灵长动物(例如人)和啮齿动物(例如小鼠和大鼠)的任何天然CD19,除非另外指明。该术语涵盖“全长”,未加工的CD19以及源自细胞中加工的任何形式的CD19。该术语还涵盖CD19的天然发生变体,例如剪接变体或等位变体。在一个实施方案中,CD19是人CD19。一种例示性人CD19的氨基酸序列显示于UniProt(www.uniprot.org)登录号P15391(型式174),或NCBI(www.ncbi.nlm.nih.gov/)

RefSeq NP_001770.5,和SEQ ID NO:117。

[0242] “癌胚抗原”或“CEA”(也称作癌胚抗原相关细胞粘附分子5(CEACAM5))指来自任何脊椎动物来源,包括哺乳动物,诸如灵长动物(例如人),非人灵长动物(例如食蟹猴)和啮齿动物(例如小鼠和大鼠)的任何天然CEA,除非另外指明。该术语涵盖“全长”,未加工的CEA以及源自细胞中加工的任何形式的CEA。该术语还涵盖CEA的天然发生变体,例如剪接变体或等位变体。在一个实施方案中,CEA是人CEA。人CEA的氨基酸序列显示于UniProt(www.uniprot.org)登录号P06731,或NCBI(www.ncbi.nlm.nih.gov/)RefSeq NP_004354.2。

[0243] “成纤维细胞活化蛋白”或“FAP”(也称作seprase)指来自任何脊椎动物来源,包括哺乳动物,诸如灵长动物(例如人),非人灵长动物(例如食蟹猴)和啮齿动物(例如小鼠和大鼠)的任何天然FAP,除非另外指明。该术语涵盖“全长”,未加工的FAP以及源自细胞中加工的任何形式的FAP。该术语还涵盖FAP的天然发生变体,例如剪接变体或等位变体。在一个实施方案中,FAP是人FAP。人FAP的氨基酸序列显示于UniProt(www.uniprot.org)登录号Q12884,或NCBI(www.ncbi.nlm.nih.gov/)RefSeq NP_004451.2。

[0244] “交换”Fab分子(也称作“Crossfab”)意指其中Fab重链和轻链的可变域或恒定域交换(即彼此替换)的Fab分子,即交换Fab分子包含由轻链可变域VL和重链恒定域1CH1构成的肽链(VL-CH1,N至C端方向),和由重链可变域VH和轻链恒定域CL构成的肽链(VH-CL,N至C端方向)。为了清楚,在其中Fab轻链和Fab重链的可变域交换的交换Fab分子中,包含重链恒定域1CH1的肽链在本文中称作(交换)Fab分子的“重链”。相反,在其中Fab轻链和Fab重链的恒定域交换的交换Fab分子中,包含重链可变域VH的肽链在本文中称作(交换)Fab分子的“重链”。

[0245] 与之相反,“常规”Fab分子意指处于它的天然型式的Fab分子,即包含由重链可变和恒定域构成的重链(VH-CH1,N至C端方向),和由轻链可变和恒定域构成的轻链(VL-CL,N至C端方向)。

[0246] II型抗CD20抗体

[0247] CD20分子(也称作人B淋巴细胞局限的分化抗原或Bp35)是一种已经广泛描述的在恶性和非恶性前B和成熟B淋巴细胞的表面上表达的疏水性跨膜蛋白(Valentine,M.A.,et al.,J.Biol.Chem.264(1989)11282-11287;Einfeld,D.A.,et al.,EMBO J.7(1988)711-717;Tedder,T.F.,et al.,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.85(1988)208-212;Stamenkovic,I.,et al.,J.Exp.Med.167(1988)1975-1980;Tedder,T.F.,et al.,J.Immunol.142(1989)2560-2568)。

[0248] CD20由超过90%的B细胞非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)高度表达(Anderson,K.C.,et al.,Blood 63(1984)1424-1433)但在造血干细胞,原B细胞,正常浆细胞,或其它正常组织上没有找到(Tedder,T.F.,et al.,J.Immunol.135(1985)973-979)。

[0249] 存在有两种不同类型的抗CD20抗体,在它们的CD20结合和生物学活性的模式中显著不同(Cragg,M.S.,et al.,Blood 103(2004)2738-2743;Cragg,M.S.,et al.,Blood 101(2003)1045-1052)。I型抗CD20抗体主要利用补体来杀死靶细胞,而II型抗体主要经由直接诱导细胞死亡来运转。

[0250] I型和II型抗CD20抗体和它们的特征在例如Klein et al.,mAbs 5(2013),22-33

中综述。II型抗CD20抗体并不将CD20局部化于脂筏,显示低CDC活性,只显示与I型抗CD20抗体相比约一半的对B细胞的结合能力,且诱导同型聚集和直接细胞死亡。与之对比,I型抗体将CD20局部化于脂筏,显示高CDC活性,完全的对B细胞的结合能力,和仅仅较弱的对同型聚集和直接细胞死亡的诱导。

[0251] obinutuzumab和tositumumab (CAS编号192391-48) 是II型抗CD20抗体的例子,而rituximab,ofatumumab,veltuzumab,ocaratuzumab,ocrelizumab,PR0131921和ublituximab是I型抗CD20抗体的例子。

[0252] 依照本发明,该抗CD20抗体是II型抗CD20抗体。在一个实施方案中,依照本发明,该II型抗CD20抗体能够降低受试者中的B细胞数目。在一个实施方案中,该II型抗CD20抗体是IgG抗体,特别是IgG1抗体。在一个实施方案中,该II型抗CD20抗体是全长抗体。在一个实施方案中,该II型抗CD20抗体包含Fc区,特别是IgG Fc区,或更加特别的是IgG1 Fc区。在一个实施方案中,该II型抗CD20抗体是人源化的B-Ly1抗体。特别地,该II型抗CD20抗体是人源化的,IgG类II型抗CD20抗体,具有鼠B-Ly1抗体的结合特异性 (Poppema and Visser, Biotest Bulletin 3,131-139 (1987); SEQ ID NO:2和3)。

[0253] 在一个实施方案中,该II型抗CD20抗体包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:4的重链CDR (HCDR) 1,SEQ ID NO:5的HCDR2,和SEQ ID NO:6的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:7的轻链CDR (LCDR) 1,SEQ ID NO:8的LCDR2和SEQ ID NO:9的LCDR3。特别地,所述II型抗CD20抗体的重链可变区框架区 (FR) FR1,FR2,和FR3是由VH1_10人种序列编码的人FR序列,所述抗CD20抗体的重链可变区FR4是由JH4人种序列编码的人FR序列,所述II型抗CD20抗体的轻链可变区FR FR1,FR2,和FR3是由VK_2_40人种序列编码的人FR序列,而所述抗CD20抗体的轻链可变区FR4是由JK4人种序列编码的人FR序列。在一个实施方案中,该II型抗CD20抗体包含SEQ ID NO:10的重链可变区序列和SEQ ID NO:11的轻链可变区序列。

[0254] 在一个特定的实施方案中,该II型抗CD20抗体是obinutuzumab (推荐的INN,WHO药物信息,Vol.26,No.4,2012,p.453)。如本文中使用的,obinutuzumab与GA101同义。商品名称是GAZYVA®或GAZYVARO®。这替换所有先前的型式 (例如Vol.25,No.1,2011,p.75-76),而且以前称作afutuzumab (推荐的INN,WHO药物信息,Vol.23,No.2,2009,p.176; Vol.22,No.2,2008,p.124)。在一个实施方案中,该II型抗CD20抗体是tositumomab。

[0255] 在本发明中有用的II型抗CD20抗体可以改造成具有与相应的非工程化抗体相比升高的效应器功能。在一个实施方案中,改造成具有升高的效应器功能的抗体具有与相应的非工程化抗体相比升高至少2倍,至少10倍或甚至至少100倍的效应器功能。该升高的效应器功能可以包括但不限于下述中的一项或多项:升高的Fc受体结合,升高的C1q结合和补体依赖性细胞毒性 (CDC),升高的抗体依赖性细胞介导的细胞毒性 (ADCC),升高的抗体依赖性细胞的吞噬 (ADCP),升高的细胞因子分泌,升高的抗原呈递细胞的免疫复合物介导的抗原摄取,升高的对NK细胞的结合,升高的对巨噬细胞的结合,升高的对单核细胞的结合,升高的对多形核细胞的结合,升高的直接的诱导凋亡的信号传导,升高的靶物结合的抗体的交联,升高的树突细胞成熟,或升高的T细胞引发。

[0256] 在一个实施方案中,该升高的效应器功能是选自升高的Fc受体结合,升高的CDC,升高的ADCC,升高的ADCP,和升高的细胞因子分泌的组的一项或多项。在一个实施方案中,

该升高的效应器功能是升高的对活化性Fc受体的结合。在一个此类实施方案中,对该活化性Fc受体的结合亲和力与相应的非工程化抗体的结合亲和力相比升高至少2倍,特别是至少10倍。在一个具体的实施方案中,该活化性Fc受体选自Fc γ RIIIa, Fc γ RI, 和Fc γ RIIa的组。在一个实施方案中,该活化性Fc受体是Fc γ RIIIa,特别是人Fc γ RIIIa。在另一个实施方案中,该升高的效应器功能是升高的ADCC。在一个此类实施方案中,该ADCC与相应的非工程化抗体介导的ADCC相比升高至少10倍,特别是至少100倍。在还有另一个实施方案中,该升高的效应器功能是升高的对活化性Fc受体的结合和升高的ADCC。

[0257] 升高的效应器功能可以通过本领域已知的方法来测量。本文中描述了一种合适的用于测量ADCC的测定法。评估感兴趣分子的ADCC活性的体外测定法的其它例子记载于美国专利No.5,500,362; Hellstrom et al. Proc Natl Acad Sci USA 83,7059-7063 (1986) 和 Hellstrom et al., Proc Natl Acad Sci USA 82,1499-1502 (1985); 美国专利No.5,821,337; Bruggemann et al., J Exp Med 166,1351-1361 (1987)。或者,可以采用非放射活性测定法方法(参见例如用于流式细胞术的ACTITTM非放射活性细胞毒性测定法(CellTechnology, Inc., Mountain View, CA); 和CytoTox 96®非放射活性细胞毒性测定法(Promega, Madison, WI))。对于此类测定法有用的效应细胞包括外周血单个核细胞(PBMC)和天然杀伤(NK)细胞。或者/另外,可以在体内评估感兴趣分子的ADCC活性,例如在动物模型中,诸如Clynes et al., Proc Natl Acad Sci USA 95,652-656 (1998)中披露的。对Fc受体的结合可以例如通过ELISA或通过使用标准仪器诸如BIAcore仪器(GE Healthcare)的表面等离子共振共振(SPR)来容易地测定,而Fc受体可以诸如通过重组表达来获得。依照一个特定的实施方案,对活化性Fc受体的结合亲和力使用BIACORE® T100机器(GE Healthcare)通过表面等离子共振于25℃测量。或者,抗体对Fc受体的结合亲和力可以使用已知表达特定Fc受体的细胞系来评估,诸如表达Fc γ RIIIa受体的NK细胞。还可以进行C1q结合测定法以确定抗体是否能够结合C1q且因此具有CDC活性。参见例如WO 2006/029879和WO 2005/100402中的C1q和C3c结合ELISA。为了评估补体活化,可以实施CDC测定法(参见例如Gazzano-Santoro et al., J Immunol Methods 202,163 (1996); Cragg et al., Blood 101,1045-1052 (2003); 及Cragg and Glennie, Blood 103,2738-2743 (2004))。

[0258] 升高的效应器功能可以源自例如Fc区的糖工程化或在抗体的Fc区中引入氨基酸突变。在一个实施方案中,该抗CD20抗体是通过在Fc区中引入一处或多处氨基酸突变而改造的。在一个具体的实施方案中,该氨基酸突变是氨基酸替代。在一个甚至更加具体的实施方案中,该氨基酸替代在Fc区的位置298,333,和/或334处(EU残基编号方式)。别的合适的氨基酸突变记载于例如Shields et al., J Biol Chem 9 (2), 6591-6604 (2001); 美国专利No.6,737,056; WO 2004/063351和WO 2004/099249。突变型Fc区可以使用本领域公知的遗传或化学方法通过氨基酸删除,替代,插入或修饰来制备。遗传方法可以包括编码DNA序列的位点特异性诱变,PCR,基因合成,等等。正确的核苷酸变化可以例如通过测序来验证。

[0259] 在另一个实施方案中,通过修饰Fc区中的糖基化来改造该II型抗CD20抗体。在一个具体的实施方案中,该II型抗CD20抗体改造成具有Fc区中与未改造的抗体相比比例升高的非岩藻糖基化的寡糖。抗体的Fc区中比例升高的非岩藻糖基化的寡糖导致该抗体具有升高的效应器功能,特别是升高的ADCC。

[0260] 在一个更加具体的实施方案中,该II型抗CD20抗体的Fc区中至少约20%,约25%,

约30%，约35%，约40%，约45%，约50%，约55%，约60%，约65%，约70%，约75%，约80%，约85%，约90%，约95%，或约100%，优选至少约40%的N连接的寡糖是非岩藻糖基化的。在一个实施方案中，该II型抗CD20抗体的Fc区中介于约40%和约80%之间的N连接的寡糖是非岩藻糖基化的。在一个实施方案中，该II型抗CD20抗体的Fc区中介于约40%和约60%之间的N连接的寡糖是非岩藻糖基化的。该非岩藻糖基化的寡糖可以是杂合或复合类型的。

[0261] 在另一个具体的实施方案中，该II型抗CD20抗体改造成具有Fc区中与未改造的抗体相比比例升高的两分型寡糖。在一个更加具体的实施方案中，该II型抗CD20抗体的Fc区中至少约10%，约15%，约20%，约25%，约30%，约35%，约40%，约45%，约50%，约55%，约60%，约65%，约70%，约75%，约80%，约85%，约90%，约95%，或约100%，优选至少约40%的N连接的寡糖是两分型的。在一个实施方案中，该抗CD20抗体的Fc区中介于约40%和约80%之间的N连接的寡糖是两分型的。在一个实施方案中，该II型抗CD20抗体的Fc区中介于约40%和约60%之间的N连接的寡糖是两分型的。该两分型寡糖可以是杂合或复合类型的。

[0262] 在还有另一个具体的实施方案中，该抗CD20抗体改造成具有Fc区中与未改造的抗体相比比例升高的两分型，非岩藻糖基化的寡糖。在一个更加具体的实施方案中，该抗CD20抗体的Fc区中至少约10%，约15%，约20%，约25%，约30%，约35%，约40%，约45%，约50%，约55%，约60%，约65%，约70%，约75%，约80%，约85%，约90%，约95%，或约100%，优选至少约15%，更加优选至少约25%的N连接的寡糖是两分型，非岩藻糖基化的。该两分型，非岩藻糖基化的寡糖可以是杂合或复合类型的。

[0263] 抗体Fc区中的寡糖结构可以通过本领域公知的方法，例如通过Umana et al., Nat Biotechnol 17,176-180 (1999) 或Ferrara et al., Biotechn Bioeng 93,851-861 (2006) 中描述的MALDI TOF质谱术来分析。非岩藻糖基化的寡糖的百分比是相对于附着于Asn 297 (例如复合的，杂合的和高甘露糖的结构) 且通过MALDI TOF MS在经N-糖苷酶F处理的样品中鉴定的所有寡糖，缺乏岩藻糖残基的寡糖的量。Asn 297指位于Fc区中约位置297 (Fc区残基的EU编号方式) 处的天冬酰胺残基；然而，由于抗体中的微小序列变异，Asn297也可以位于位置297上游或下游约±3个氨基酸，即介于位置294和300之间。类似地测定两分型，或两分型非岩藻糖基化的寡糖的百分比。

[0264] 在一个实施方案中，通过在具有活性改变的一种或多种糖基转移酶的宿主细胞中生成该抗体，该II型抗CD20抗体改造成具有Fc区中与未改造的抗体相比经修饰的糖基化。糖基转移酶包括β(1,4)-N-乙酰基葡萄糖胺基转移酶III (GnTIII)，β(1,4)-半乳糖基转移酶(GalT)，β(1,2)-N-乙酰基葡萄糖胺基转移酶I (GnTI)，β(1,2)-N-乙酰基葡萄糖胺基转移酶II (GnTII) 和α(1,6)-岩藻糖基转移酶。在一个具体的实施方案中，通过在具有升高的β(1,4)-N-乙酰基葡萄糖胺基转移酶III (GnTIII) 活性的宿主细胞中生成该抗体，该II型抗CD20抗体改造成具有Fc区中与未改造的抗体相比比例升高的非岩藻糖基化的寡糖。在一个甚至更加具体的实施方案中，该宿主细胞另外具有升高的α-甘露糖苷酶II (ManII) 活性。可用于工程化改造对本发明有用的抗体的糖工程方法学极为详细地描述于Umana et al., Nat Biotechnol 17,176-180 (1999) ; Ferrara et al., Biotechn Bioeng 93,851-861 (2006) ; WO 99/54342 (美国专利No.6,602,684; EP 1071700) ; WO 2004/065540 (美国专利申请公开文本No.2004/0241817; EP 1587921) , WO 03/011878 (美国专利申请公开文本No.2003/

0175884),通过援引将其每一篇的整个内容完整收入本文。使用这种方法学糖工程化改造的抗体在本文中称作GlycoMab。

[0265] 一般地,可以使用任何类型的培养的细胞系,包括本文中讨论的细胞系来生成具有改变的糖基化样式的抗TNC A2抗体。特定的细胞系包括CHO细胞,BHK细胞,NS0细胞,SP2/0细胞,Y0骨髓瘤细胞,P3X63小鼠骨髓瘤细胞,PER细胞,PER.C6细胞或杂交瘤细胞,和其它哺乳动物细胞。在某些实施方案中,该宿主细胞操作成表达水平升高的一种或多种具有 β (1,4)-N-乙酰基葡萄糖胺基转移酶III(GnTIII)活性的多肽。在某些实施方案中,该宿主细胞进一步操作成表达水平升高的一种或多种具有 α -甘露糖苷酶II(ManII)活性的多肽。在一个具体的实施方案中,该具有GnTIII活性的多肽是包含GnTIII的催化域和异源高尔基驻留多肽的高尔基局限化域的融合多肽。特别地,所述高尔基局限化域是甘露糖苷酶II的高尔基局限化域。用于生成此类融合多肽和使用它们来生成具有升高的效应器功能的抗体的方法公开于Ferrara et al.,Biotechn Bioeng 93,851-861(2006)和W02004/065540,通过援引将其整个内容明确收入本文。

[0266] 含有对本发明有用的抗体的编码序列和/或具有糖基转移酶活性的多肽的编码序列,且表达生物学活性基因产物的宿主细胞可以例如通过DNA-DNA或DNA-RNA杂交;“标志物”基因功能的存在或缺失;评估转录的水平(如通过宿主细胞中相应mRNA转录物的表达测量的);或检测基因产物(如通过免疫测定法或通过它的生物学活性测量的)-本领域公知的方法来鉴定。GnTIII或Man II活性可以例如通过采用分别结合GnTIII或ManII的生物合成产物的凝集素来检测。此类凝集素的一个例子是优先结合含有两分型GlcNAc的寡糖的E₄-PHA凝集素。具有GnTIII或ManII活性的多肽的生物合成产物(即特定寡糖结构)也可以通过自由表达所述多肽的细胞生成的糖蛋白释放的寡糖的质谱术分析来检测。或者,可以使用测量由用具有GnTIII或ManII活性的多肽工程化改造的细胞生成的抗体介导的升高的效应器功能,例如升高的Fc受体结合的功能测定法。

[0267] 在另一个实施方案中,通过在具有降低的 α (1,6)-岩藻糖基转移酶活性的宿主细胞中生成该抗体,该抗CD20抗体改造成具有Fc区中与未改造的抗体相比比例升高的非岩藻糖基化的寡糖。具有降低的 α (1,6)-岩藻糖基转移酶活性的宿主细胞可以是 α (1,6)-岩藻糖基转移酶基因遭到破坏或其它方式失活的细胞,例如敲除(参见Yamane-Ohnuki et al.,Biotech Bioeng 87,614(2004);Kanda et al.,Biotechnol Bioeng,94(4),680-688(2006);Niwa et al.,J Immunol Methods 306,151-160(2006))。

[0268] 能够生成去岩藻糖基化的抗体的细胞系的其它例子包括蛋白质岩藻糖基化缺陷的Lec13 CHO细胞(Ripka et al.,Arch Biochem Biophys 249,533-545(1986);美国专利申请No.US 2003/0157108;和W0 2004/056312,尤其是实施例11)。或者,依照EP 1 176 195A1,W0 03/084570,W0 03/085119和美国专利申请公开文本No.2003/0115614,2004/093621,2004/110282,2004/110704,2004/132140,美国专利No.6,946,292(Kyowa)中公开的技术,例如通过降低或消除用于抗体生成的宿主细胞中GDP-岩藻糖转运蛋白的活性,在本发明中有用的抗体可以糖工程化改造成具有Fc区中减少的岩藻糖残基。

[0269] 在本发明中有用的糖工程化抗体也可以在生成经修饰的糖蛋白的表达系统中生成,诸如W0 03/056914(GlycoFi,Inc.)中或W0 2004/057002和W0 2004/024927(Greenovation)中教导的那些。

[0270] 治疗剂

[0271] 本发明连同多种治疗剂,特别是在受试者中具有免疫原性(即有能力在受试者中诱导免疫应答)和/或在受试者中活化T细胞的治疗剂是有用的。此类治疗剂包括例如重组蛋白。

[0272] 在一个实施方案中,当以不施用II型抗CD20抗体的治疗方案施用于受试者,该治疗剂在该受试者中诱导ADA形成。在一个实施方案中,当以不施用II型抗CD20抗体的治疗方案施用于受试者时,该治疗剂在该受试者中诱导细胞因子释放。在一个实施方案中,当以不施用II型抗CD20抗体的治疗方案施用于受试者时,该治疗剂在该受试者中诱导ADA形成和细胞因子释放。

[0273] 在一个实施方案中,该治疗剂是生物学药剂。在一个实施方案中,该治疗剂包含多肽,特别是重组多肽。在一个实施方案中,该治疗剂包含在受试者中并不天然发生和/或在受试者中具有免疫原性的多肽。在一个实施方案中,该治疗剂要系统施用。在一个实施方案中,该治疗剂要通过输注,特别是静脉内输注来施用。

[0274] 在一个实施方案中,该治疗剂包含抗原结合多肽。在一个实施方案中,该治疗剂包含选自抗体,抗体片段,Fc域,和免疫缀合物的组的多肽。在一个实施方案中,该治疗剂包含选自抗体,抗体片段,抗原受体或其抗原结合片段,和受体配体或其受体结合片段的组的多肽。在一个实施方案中,该治疗剂包含抗体。在一个实施方案中,该抗体是单克隆抗体。在一个实施方案中,该抗体是多克隆抗体。在一个实施方案中,该抗体是人抗体。在一个实施方案中,该抗体是人源化抗体。在一个实施方案中,该抗体是嵌合抗体。在一个实施方案中,该抗体是全长抗体。在一个实施方案中,该抗体是IgG类抗体,特别是IgG1亚类抗体。在一个实施方案中,该抗体是重组抗体。

[0275] 在某些实施方案中,该治疗剂包含抗体片段。抗体片段包括但不限于Fab,Fab', Fab'-SH,F(ab')₂,Fv,和scFv片段,及下文所描述的其它片段。关于某些抗体片段的综述,见Hudson等,Nat.Med.9:129-134(2003)。关于scFv片段的综述,见例如Plückthun,于The Pharmacology of Monoclonal Antibodies,第113卷,Rosenburg和Moore编,(Springer-Verlag,New York),第269-315页(1994);还可见W0 93/16185;及美国专利No.5,571,894和5,587,458。关于包含补救受体结合表位残基,并且具有延长的体内半衰期的Fab和F(ab')₂片段的讨论,见美国专利No.5,869,046。在一个实施方案中,该抗体片段是Fab片段或scFv片段。

[0276] 双抗体是具有两个抗原结合位点的抗体片段,其可以是二价的或双特异性的。见例如EP 404,097;W0 1993/01161;Hudson等,Nat.Med.9:129-134(2003);及Hollinger等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:6444-6448(1993)。三抗体和四抗体也记载于Hudson等,Nat.Med.9:129-134(2003)。

[0277] 单域抗体是包含抗体的整个或部分重链可变域或整个或部分轻链可变域的抗体片段。在某些实施方案中,单域抗体是人单域抗体(Domantis,Inc.,Waltham,MA;见例如美国专利No.6,248,516B1)。

[0278] 可以通过多种技术,包括但不限于对完整抗体的蛋白水解消化及重组宿主细胞(例如大肠杆菌或噬菌体)的生成来生成抗体片段,如本文中所描述的。

[0279] 在某些实施方案中,该治疗剂包含嵌合抗体。某些嵌合抗体记载于例如美国专利

No.4,816,567;及Morrison等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,81:6851-6855(1984))。在一个例子中,嵌合抗体包含非人可变区(例如,自小鼠,大鼠,仓鼠,家兔,或非人灵长类,诸如猴衍生的可变区)和人恒定区。在又一个例子中,嵌合抗体是“类转换的”抗体,其中类或亚类已经自亲本抗体的类或亚类改变。嵌合抗体包括其抗原结合片段。

[0280] 在某些实施方案中,该治疗剂包含人源化抗体。通常,将非人抗体人源化以降低对人的免疫原性,同时保留亲本非人抗体的特异性和亲和力。一般地,人源化抗体包含一个或多个可变域,其中HVR,例如CDR(或其部分)自非人抗体衍生,而FR(或其部分)自人抗体序列衍生。任选地,人源化抗体还会至少包含人恒定区的一部分。在一些实施方案中,将人源化抗体中的一些FR残基用来自非人抗体(例如衍生HVR残基的抗体)的相应残基替代,例如以恢复或改善抗体特异性或亲和力。

[0281] 人源化抗体及其生成方法综述于例如Almagro和Fransson,Front.Biosci.13:1619-1633(2008),并且进一步记载于例如Riechmann等,Nature 332:323-329(1988);Queen等,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 86:10029-10033(1989);美国专利No.5,821,337,7,527,791,6,982,321和7,087,409;Kashmiri等,Methods 36:25-34(2005)(描述了特异性决定区(SDR)嫁接);Padlan,Mol.Immunol.28:489-498(1991)(描述了“重修表面”);Dall'Acqua等,Methods 36:43-60(2005)(描述了“FR改组”);及Osbourne等,Methods 36:61-68(2005)和Klimka等,Br.J.Cancer,83:252-260(2000)(描述了FR改组的“引导选择”方法)。

[0282] 可以用于人源化的人框架区包括但不限于:使用“最佳拟合(best-fit)”方法选择的框架区(见例如Sims等,J.Immunol.151:2296(1993));自轻或重链可变区的特定亚组的人抗体的共有序列衍生的框架区(见例如Carter等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,89:4285(1992);及Presta等,J.Immunol.,151:2623(1993));人成熟的(体细胞突变的)框架区或人种系框架区(见例如Almagro和Fransson,Front.Biosci.13:1619-1633(2008));和通过筛选FR文库衍生的框架区(见例如Baca等,J.Biol.Chem.272:10678-10684(1997)及Rosok等,J.Biol.Chem.271:22611-22618(1996))。

[0283] 在某些实施方案中,该治疗剂包含人抗体。可以使用本领域中已知的多种技术来生成抗体。一般地,人抗体记载于van Dijk和van de Winkel,Curr.Opin.Pharmacol.5:368-74(2001)及Lonberg,Curr.Opin.Immunol.20:450-459(2008)。

[0284] 可以通过对转基因动物施用免疫原来制备人抗体,所述转基因动物已经修饰为响应抗原性攻击而生成完整人抗体或具有人可变区的完整抗体。此类动物通常含有所有或部分人免疫球蛋白基因座,其替换内源免疫球蛋白基因座,或者其在染色体外存在或随机整合入动物的染色体中。在此类转基因小鼠中,一般已经将内源免疫球蛋白基因座灭活。关于自转基因动物获得人抗体的方法的综述,见Lonberg,Nat.Biotech.23:1117-1125(2005)。还可见例如美国专利No.6,075,181和6,150,584,其描述了XENOMOUSE™技术;美国专利No.5,770,429,其描述了HUMAB®技术;美国专利No.7,041,870,其描述了K-MOUSE®技术,和美国专利申请公开文本No.US 2007/0061900,其描述了VELOCIMOUSE®技术)。可以例如通过与不同人恒定区组合进一步修饰来自此类动物生成的完整抗体的人可变区。

[0285] 也可以通过基于杂交瘤的方法生成抗体。已经描述了用于生成人单克隆抗体的

人骨髓瘤和小鼠-人异骨髓瘤细胞系(见例如Kozbor J.Immunol.,133:3001(1984); Brodeur等,Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications,第51-63页(Marcel Dekker,Inc.,New York,1987);及Boerner等,J.Immunol.,147:86(1991))。经由人B细胞杂交瘤技术生成的人抗体也记载于Li等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,103:3557-3562(2006)。其它方法包括那些例如记载于美国专利No.7,189,826(其描述了自杂交瘤细胞系生成单克隆人IgM抗体)和Ni,Xiandai Mianyixue,26(4):265-268(2006)(其描述了人-人杂交瘤)的。人杂交瘤技术(Trioma技术)也记载于Vollmers和Brandlein,Histology and Histopathology,20(3):927-937(2005)及Vollmers和Brandlein,Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology,27(3):185-91(2005)。

[0286] 也可以通过分离自人衍生的噬菌体展示文库选择的Fv克隆可变域序列生成抗体。然后,可以将此类可变域序列与期望的人恒定域组合。下文描述了自抗体文库选择人抗体的技术。

[0287] 可以通过对组合文库筛选具有期望的一种或多种活性的抗体来分离该治疗剂中包含的抗体。例如,用于生成噬菌体展示文库并对此类文库筛选拥有期望结合特征的抗体的多种方法是本领域中已知的。此类方法综述于例如Hoogenboom等,于Methods in Molecular Biology 178:1-37(O'Brien等编,Human Press,Totowa,NJ,2001),并且进一步记载于例如McCafferty等,Nature 348:552-554;Clackson等,Nature 352:624-628(1991);Marks等,J.Mol.Biol.222:581-597(1992);Marks和Bradbury,于Methods in Molecular Biology 248:161-175(Lo编,Human Press,Totowa,NJ,2003);Sidhu等,J.Mol.Biol.338(2):299-310(2004);Lee等,J.Mol.Biol.340(5):1073-1093(2004);Fellouse,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 101(34):12467-12472(2004);及Lee等,J.Immunol.Methods 284(1-2):119-132(2004)。

[0288] 在某些噬菌体展示方法中,将VH和VL基因的全集分别通过聚合酶链式反应(PCR)克隆,并在噬菌体文库中随机重组,然后可以对所述噬菌体文库筛选抗原结合噬菌体,如记载于Winter等,Ann.Rev.Immunol.,12:433-455(1994)的。噬菌体通常以单链Fv(scFv)片段或以Fab片段展示抗体片段。来自经免疫的来源的文库提供针对免疫原的高亲和力抗体,而不需要构建杂交瘤。或者,可以(例如自人)克隆天然全集以在没有任何免疫的情况中提供针对一大批非自身和还有自身抗原的抗体的单一来源,如由Griffiths等,EMBO J,12:725-734(1993)描述的。最后,也可以通过自干细胞克隆未重排的V基因区段,并使用含有随机序列的PCR引物编码高度可变的CDR3区并在体外实现重排来合成生成未免疫文库,如由Hoogenboom和Winter,J.Mol.Biol.,227:381-388(1992)所描述的。描述人抗体噬菌体文库的专利公开文本包括例如:美国专利No.5,750,373,和美国专利公开文本No.2005/0079574,2005/0119455,2005/0266000,2007/0117126,2007/0160598,2007/0237764,2007/0292936和2009/0002360。

[0289] 认为自人抗体文库分离的抗体或抗体片段是本文中的人抗体或人抗体片段。

[0290] 在某些实施方案中,该治疗剂包含多特异性抗体,例如双特异性抗体。多特异性抗体是对至少两个不同位点具有结合特异性的单克隆抗体。在某些实施方案中,结合特异性针对不同抗原。在某些实施方案中,结合特异性针对同一抗原上的不同表位。也可以使用双特异性抗体来将细胞毒剂定位于表达抗原的细胞。双特异性抗体可以以全长抗体或抗体片

段制备。

[0291] 用于生成多特异性抗体的技术包括但不限于具有不同特异性的两对免疫球蛋白重链-轻链对的重组共表达(见Milstein和Cuello, Nature 305:537 (1983)), WO 93/08829, 和Traunecker等, EMBO J. 10:3655 (1991)), 和“节-入-穴”工程化(见例如美国专利No. 5, 731, 168)。也可以通过用于生成抗体Fc-异二聚体分子的工程化静电操纵效应(WO 2009/089004A1); 交联两个或更多个抗体或片段(见例如美国专利No. 4, 676, 980, 及Brennan等, Science, 229:81 (1985)); 使用亮氨酸拉链来生成双特异性抗体(见例如Kostelny等, J. Immunol., 148 (5):1547-1553 (1992)); 使用用于生成双特异性抗体片段的“双抗体”技术(见例如Hollinger等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)); 及使用单链Fv (sFv) 二聚体(见例如Gruber等, J. Immunol., 152:5368 (1994)); 及如例如Tutt等, J. Immunol. 147:60 (1991) 中所描述的, 制备三特异性抗体来生成多特异性抗体。

[0292] 本文中还包括具有三个或更多个功能性抗原结合位点的工程化改造抗体, 包括“章鱼抗体”(见例如US 2006/0025576A1)。

[0293] 本文中的抗体或片段还包括包含结合两种不同抗原的抗原结合位点的“双重作用 Fab”或“DAF”(见例如US 2008/0069820)。

[0294] 本文中还包括“Crossmab”抗体(参见例如WO2009080251, WO2009080252, WO2009080253, WO2009080254)。

[0295] 用于生成双特异性抗体片段的另一种技术是“双特异性T细胞衔接器”(engager) 或 **BiTE®** 办法(参见例如WO2004/106381, WO2005/061547, WO2007/042261, 和WO2008/119567)。这种办法利用在单一多肽上排列的两种抗体可变域。例如, 单一多肽链包括两个单链Fv (scFv) 片段, 每个具有由多肽接头分开的一个可变重链(V_H) 域和一个可变轻链(V_L) 域, 多肽接头的长度足以容许两个域之间的分子内联合。此单一多肽进一步包括两个scFv 片段之间的多肽间隔物序列。每个scFv 识别不同的表位, 而且这些表位可以是不同细胞类型特异性的, 使得当每种scFv 啮合其关联表位时两种不同细胞类型的细胞变成紧密接近或系留。这种办法的一个具体实施方案包括识别由免疫细胞表达的细胞表面抗原(例如T细胞上的CD3多肽) 的scFv 连接识别由靶细胞(诸如恶性或肿瘤细胞) 表达的细胞表面抗原的另一scFv。

[0296] 因为它是单一多肽, 所以双特异性T细胞衔接器可以使用本领域已知的任何原核或真核细胞表达系统(例如CHO细胞系) 来表达。然而, 特定纯化技术(参见例如EP1691833) 对于分开单体双特异性T细胞衔接器与其它多聚体种类(其可能具有与单体的预定活性不同的生物学活性) 可能是必需的。在一种例示性纯化方案中, 首先对含有分泌多肽的溶液进行金属亲和层析, 并用咪唑浓度的梯度洗脱多肽。使用阴离子交换层析进一步纯化此洗出液, 并使用氯化钠浓度的梯度洗脱多肽。最后, 对此洗出液进行大小排阻层析以分开单体与多聚体种类。

[0297] 涵盖具有超过两个效价的抗体。例如, 可制备三特异性抗体。Tuft et al., J. Immunol., 147:60 (1991)。

[0298] 在某些实施方案中, 可以进一步修饰该治疗剂中包含的抗体以含有本领域知道的且易于获得的额外非蛋白质性质模块。适合于抗体衍生化的模块包括但不限于水溶性聚合物。水溶性聚合物的非限制性例子包括但不限于聚乙二醇(PEG), 乙二醇/丙二醇共聚物, 羧

甲基纤维素,右旋糖苷,聚乙烯醇,聚乙烯吡咯烷酮,聚-1,3-二氧戊环,聚-1,3,6-三噁烷,乙烯/马来酸酐共聚物,聚氨基酸(均聚物或随机共聚物),和右旋糖苷或聚(n-乙烯吡咯烷酮)聚乙二醇,丙二醇均聚物,环氧丙烷/环氧乙烷共聚物,聚氧乙烯化多元醇(例如甘油),聚乙烯醇及其混合物。由于其在水中的稳定性,聚乙二醇丙醛在生产中可能具有优势。聚合物可以是任何分子量,而且可以是分支的或不分支的。附着到抗体上的聚合物数目可以变化,而且如果附着了超过一个聚合物,那么它们可以是相同或不同的分子。一般而言,可根据下列考虑来确定用于衍生化的聚合物的数目和/或类型,包括但不限于抗体要改进的具体特性或功能,抗体衍生物是否将用于指定条件下的治疗等。

[0299] 该治疗剂还可包含与一种或多种细胞毒剂,诸如化疗剂或药物,生长抑制剂,毒素(例如蛋白质毒素,细菌,真菌,植物或动物起源的酶活性毒素,或其片段),或放射性同位素缀合的抗体。

[0300] 在一个实施方案中,该治疗剂包含抗体-药物缀合物(ADC),其中抗体与一种或多种药物缀合,包括但不限于美登木素生物碱(见美国专利No.5,208,020,5,416,064和欧洲专利EP 0 425 235B1);auristatin诸如单甲基auristatin药物模块DE和DF(MMAE和MMAF)(见美国专利No.5,635,483和5,780,588及7,498,298);多拉司他汀(dolastatin);加利车霉素(calicheamicin)或其衍生物(见美国专利No.5,712,374,5,714,586,5,739,116,5,767,285,5,770,701,5,770,710,5,773,001和5,877,296;Hinman等,Cancer Res.53:3336-3342(1993);及Lode等,Cancer Res.58:2925-2928(1998));蒽环类抗生素诸如道诺霉素(daunomycin)或多柔比星(doxorubicin)(见Kratz等,Current Med.Chem.13:477-523(2006);Jeffrey等,Bioorganic&Med.Chem.Letters 16:358-362(2006);Torgov等,Bioconj.Chem.16:717-721(2005);Nagy等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 97:829-834(2000);Dubowchik等,Bioorg.&Med.Chem.Letters 12:1529-1532(2002);King等,J.Med.Chem.45:4336-4343(2002);及美国专利No.6,630,579);甲氨蝶呤;长春地辛(vindesine);紫杉烷(taxane)诸如多西他赛(docetaxel),帕利他赛,larotaxel,tesetaxel,和ortataxel;单端孢霉素(trichothecene);和CC1065。

[0301] 在另一个实施方案中,该治疗剂包含与酶活性毒素或其片段缀合的如本文中所描述的抗体,所述酶活性毒素包括但不限于白喉A链,白喉毒素的非结合活性片段,外毒素A链(来自铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)),蓖麻毒蛋白(ricin)A链,相思豆毒蛋白(abrin)A链,蒴莲根毒蛋白(modeccin)A链, α -帚曲霉素(sarcin),油桐(*Aleurites fordii*)毒蛋白,香石竹(dianthin)毒蛋白,美洲商陆(*Phytolacca americana*)蛋白(PAPI,PAPII和PAP-S),苦瓜(*Momordica charantia*)抑制物,麻疯树毒蛋白(curcin),巴豆毒蛋白(croton),肥皂草(*saponaria officinalis*)抑制剂,白树毒蛋白(gelonin),丝林霉素(mitogellin),局限曲菌素(restrictocin),酚霉素(phenomycin),依诺霉素(enomycin)和单端孢菌素(tricothecenes)。

[0302] 在另一个实施方案中,该治疗剂包含与放射性原子缀合以形成放射性缀合物的如本文中所描述的抗体。多种放射性同位素可用于生成放射性缀合物。例子包括 At^{211} , I^{131} , I^{125} , Y^{90} , Re^{186} , Re^{188} , Sm^{153} , Bi^{212} , P^{32} , Pb^{212} 和Lu的放射性同位素。在使用放射性缀合物进行检测时,它可以包含供闪烁法研究用的放射性原子,例如 $\text{Tc}^{99\text{m}}$ 或 I^{123} ,或供核磁共振(NMR)成像(又称为磁共振成像,mri)用的自旋标记物,诸如再一次的碘-123,碘-131,钆-111,氟-

19,碳-13,氮-15,氧-17,钆,锰或铁。

[0303] 可以使用多种双功能蛋白质偶联剂来生成抗体和细胞毒剂的缀合物,诸如N-琥珀酰亚氨基-3-(2-吡啶基二硫代)丙酸酯(SPDP),琥珀酰亚氨基-4-(N-马来酰亚氨基甲基)环己烷-1-羧酸酯(SMCC),亚氨基硫烷(IT),亚氨酸酯(诸如盐酸己二酰亚氨酸二甲酯),活性酯类(诸如辛二酸二琥珀酰亚氨基酯),醛类(诸如戊二醛),双叠氮化合物(诸如双(对-叠氮苯甲酰基)己二胺),双重氮衍生物(诸如双(对-重氮苯甲酰基)-乙二胺),二异硫氰酸酯(诸如甲苯2,6-二异氰酸酯),和双活性氟化合物(诸如1,5-二氟-2,4-二硝基苯)的双功能衍生物。例如,可以如Vitetta等,Science 238:1098(1987)中所述制备蓖麻毒蛋白免疫毒素。碳-14标记的1-异硫氰酸苄基-3-甲基二亚乙基三胺五乙酸(MX-DTPA)是用于将放射性核苷酸与抗体缀合的例示性螯合剂。参见W094/11026。接头可以是便于在细胞中释放细胞毒性药物的“可切割接头”。例如,可使用酸不稳定接头,肽酶敏感性接头,光不稳定接头,二甲基接头或含二硫化物接头(Chari等,Cancer Res 52:127-131(1992);美国专利No.5,208,020)。

[0304] 在一些实施方案中,该治疗剂可包含单克隆抗体,诸如但不限于alemtuzumab (LEMTRADA®), bevacizumab (AVASTIN®), cetuximab (ERBITUX®), panitumumab (VECTIBIX®), pertuzumab (OMNITARG®, 2C4), trastuzumab (HERCEPTIN®), tositumomab (Bexxar®), abciximab (REOPRO®), adalimumab (HUMIRA®), apolizumab, aselizumab, atlizumab, bapineuzumab, basiliximab (SIMULECT®), bavituximab, belimumab (BENLYSTA®), briankinumab, canakinumab (ILARIS®), cedelizumab, certolizumab pegol (CIMZIA®), cidfusituzumab, cidtuzumab, cixutumumab, clazakizumab, crenezumab, daclizumab (ZENAPAX®), dalotuzumab, denosumab (PROLIA®, XGEVA®), eculizumab (SOLIRIS®), efalizumab, epratuzumab, erlizumab, felvizumab, fontolizumab, golimumab (SIMPONI®), ipilimumab, imgatuzumab, infliximab (REMICADE®), labetuzumab, lebrikizumab, lexatumumab, lintuzumab, lucatumumab, lulizumab pegol, lumretuzumab, mapatumumab, matuzumab, mepolizumab, mogamulizumab, motavizumab, motovizumab, muronomab, natalizumab (TYSABRI®), necitumumab (PORTRAZZA®), nimotuzumab (THERACIM®), nolovizumab, numavizumab, olokizumab, omalizumab (XOLAIR®), onartuzumab (也称作MetMAb), palivizumab (SYNAGIS®), pascolizumab, pecfusituzumab, pectuzumab, pembrolizumab (KEYTRUDA®), pexelizumab, priliximab, ralivizumab, ranibizumab (LUCENTIS®), reslivizumab, reslizumab, resyvizumab, robatumumab, rontalizumab, rovelizumab, ruplizumab, sarilumab, secukinumab, seribantumab, sifalimumab, sibrotuzumab, siltuximab (SYLVANT®), siplizumab, sontuzumab,

tadocizumab, talizumab, tefibazumab, tocilizumab (ACTEMRA®), toralizumab, tucusituzumab, umavizumab, urtoxazumab, ustekinumab (STELARA®), vedolizumab (ENTYVIO®), visilizumab, zanolimumab, zalutumumab。

[0305] 在一个实施方案中,该治疗剂包含指明用于治疗癌症的抗体。在一个实施方案中,该治疗剂包含指明用于治疗自身免疫病的抗体。在一个实施方案中,该治疗剂是免疫治疗剂。在一个实施方案中,该治疗剂指明用于治疗癌症。在一些实施方案中,特别是涉及本发明中关注受试者中与治疗剂的施用相关的细胞因子释放降低的方面,该癌症是B细胞增殖性病症。在一个实施方案中,该癌症是CD20阳性B细胞增殖性病症。在一个实施方案中,该癌症是选自由非霍奇金淋巴瘤(NHL),急性淋巴细胞性白血病(ALL),慢性淋巴细胞性白血病(CLL),弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL),滤泡性淋巴瘤(FL),套细胞淋巴瘤(MCL),边缘区淋巴瘤(MZL),多发性骨髓瘤(MM),和霍奇金淋巴瘤(HL)组成的组。在一个实施方案中,该治疗剂是免疫治疗剂。

[0306] 在一个实施方案中,该治疗剂是免疫抑制剂。在一个实施方案中,该治疗剂指明用于治疗自身免疫病。

[0307] 不希望受理论束缚,认为通过促进活化性共刺激分子或通过抑制负面共刺激分子来增强T细胞刺激可促进肿瘤细胞死亡,由此治疗癌症或延迟癌症进展。在一些实施方案中,该治疗剂可包含针对活化性共刺激分子的激动剂。在一些实施方案中,活化性共刺激分子可包括CD40,CD226,CD28,OX40,GITR,CD137,CD27,HVEM,或CD127。在一些实施方案中,该针对活化性共刺激分子的激动剂是结合CD40,CD226,CD28,OX40,GITR,CD137,CD27,HVEM,或CD127的激动性抗体。在一些实施方案中,该治疗剂可包含靶向GITR的抗体。在一些实施方案中,该靶向GITR的抗体是TRX518。在一些实施方案中,该治疗剂可包含针对抑制性共刺激分子的拮抗剂。在一些实施方案中,抑制性共刺激分子可包括CTLA-4(也称作CD152),PD-1,TIM-3,BTLA,VISTA,LAG-3,B7-H3,B7-H4,IDO,TIGIT,MICA/B,或精氨酸酶。在一些实施方案中,该针对抑制性共刺激分子的拮抗剂是结合CTLA-4,PD-1,TIM-3,BTLA,VISTA,LAG-3,B7-H3,B7-H4,IDO,TIGIT,MICA/B,或精氨酸酶的拮抗性抗体。

[0308] 在一些实施方案中,该治疗剂可包含抗PD-1抗体。在一个实施方案中,该抗PD-1抗体选自由MDX-1106(nivolumab),MK-3475(pembrolizumab,以前称作lambrolizumab),CT-011(pidilizumab)组成的组。MDX-1106,也称作MDX-1106-04,ONO-4538,BMS-936558,或nivolumab,是W02006/121168中描述的抗PD-1抗体。MK-3475,也称作pembrolizumab或(以前)lambrolizumab,是W02009/114335中描述的抗PD-1抗体。CT-011,也称作hBAT,hBAT-1或pidilizumab,是W02009/101611中描述的抗PD-1抗体。

[0309] 在一些实施方案中,该治疗剂可包含免疫粘附素(例如包含与恒定区(例如免疫球蛋白序列的Fc区)融合的PD-L1或PD-L2的胞外或PD-1结合部分的免疫粘附素)。在一个实施方案中,该治疗剂可包含AMP-224,也称作B7-DCIg(W02010/027827和W02011/066342中描述的PD-L2-Fc融合可溶性受体)。

[0310] 在一些实施方案中,该治疗剂可包含抗PD-L1抗体。在一个实施方案中,该抗PD-L1抗体选自由YW243.55.S70,MPDL3280A,MDX-1105,和MEDI4736组成的组。抗体YW243.55.S70是W02010/077634中描述的抗PD-L1抗体。MDX-1105,也称作BMS-936559,是W02007/005874

中描述的抗PD-L1抗体。MEDI4736是W02011/066389和US2013/034559中描述的抗PD-L1单克隆抗体。在一个实施方案中,该抗PD-L1抗体是atezolizumab。

[0311] 在一些实施方案中,该治疗剂可包含针对CTLA-4(也称为CD152)的拮抗剂,例如阻断性抗体。在一些实施方案中,该治疗剂可包含ipilimumab(也称为MDX-010,MDX-101,或**YERVOY®**)。在一些实施方案中,该治疗剂可包含tremelimumab(也称为ticilimumab或CP-675,206)。在一些实施方案中,该治疗剂可包含针对B7-H3(也称为CD276)的拮抗剂,例如阻断性抗体。在一些实施方案中,该治疗剂可包含MGA271。在一些实施方案中,该治疗剂可包含针对TGFβ的拮抗剂,例如metelimumab(也称为CAT-192),fresolimumab(也称为GC1008),或LY2157299。

[0312] 在一些实施方案中,该治疗剂可包含针对CD137(也称为TNFRSF9,4-1BB,或ILA)的激动剂,例如活化性抗体。在一些实施方案中,该治疗剂可包含urelumab(也称为BMS-663513)。在一些实施方案中,该治疗剂可包含CD137(也称为TNFRSF9,4-1BB,或ILA)的配体,诸如4-1BBL。在一些实施方案中,该治疗剂可包含针对CD40的激动剂,例如活化性抗体。在一些实施方案中,该治疗剂可包含CP-870893。在一些实施方案中,该治疗剂可包含针对OX40(也称为CD134)的激动剂,例如活化性抗体。在一些实施方案中,该治疗剂可包含抗OX40抗体(例如AgonOX)。在一些实施方案中,该治疗剂可包含OX40的配体,诸如OX40L。在一些实施方案中,该治疗剂可包含针对CD27的激动剂,例如活化性抗体。在一些实施方案中,该治疗剂可包含CDX-1127。

[0313] 在一些实施方案中,该治疗剂可包含表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞(例如细胞毒性T细胞或CTL)。在一些实施方案中,该治疗剂可包含包含显性-阴性TGFβ受体,例如显性-阴性TGFβII型受体的T细胞。

[0314] 在一些实施方案中,该治疗剂可包含抗体-药物缀合物。在一些实施方案中,该抗体-药物缀合物包含mertansine或单甲基auristatin E(MMAE)。在一些实施方案中,该治疗剂可包含抗NaPi2b抗体-MMAE缀合物(也称为DNIB0600A或RG7599)。在一些实施方案中,该治疗剂可包含trastuzumab emtansine(也称为T-DM1,ado-trastuzumab emtansine,或**KADCYLA®**)。在一些实施方案中,该治疗剂可包含DMUC5754A。在一些实施方案中,该治疗剂可包含靶向内皮素B受体(EDNBR)的抗体-药物缀合物,例如与MMAE缀合的针对EDNBR的抗体(也称为DEDN6526A)。在一些实施方案中,该治疗剂可包含gemtuzumab ozogamicin(**MYLOTARG®**)。在一些实施方案中,该治疗剂可包含inotuzumab ozogamicin。在一些实施方案中,该治疗剂可包含bivatuzumab mertansine。在一些实施方案中,该治疗剂可包含cantuzumab mertansine。在一些实施方案中,该治疗剂可包含cantuzumab ravtansine。在一些实施方案中,该治疗剂可包含brentuximab vedotin(**ADECTRIS®**)。在一些实施方案中,该治疗剂可包含pinatuzumab vedotin。在一些实施方案中,该治疗剂可包含polatuzumab vedotin。在一些实施方案中,该治疗剂可包含glembatumumab vedotin。在一些实施方案中,该治疗剂可包含lorvotuzumab mertansine。在一些实施方案中,该治疗剂可包含tacatuzumab tetraxetan。在一些实施方案中,该治疗剂可包含vandortuzumab vedotin(DSTP3086S)。在一些实施方案中,该治疗剂可包含ibritumomab tiuxetan(**ZEVALIN®**)。

[0315] 在一些实施方案中,该治疗剂可包含针对血管生成素2(也称作Ang2)的抗体。在一些实施方案中,该治疗剂可包含MEDI3617。

[0316] 在一些实施方案中,该治疗剂可包含靶向CSF-1R(也称作M-CSFR或CD115)的抗体。在一些实施方案中,该治疗剂可包含IMC-CS4(LY3022855)。在一些实施方案中,该治疗剂可包含emactuzumab。

[0317] 在一些实施方案中,该治疗剂可包含细胞因子。在一些实施方案中,该治疗剂可包含干扰素,例如干扰素 α 或干扰素 γ 。在一些实施方案中,该治疗剂可包含Roferon-A(也称作重组干扰素 α -2a)。在一些实施方案中,该治疗剂可包含GM-CSF(也称作重组人粒细胞巨噬细胞集落刺激因子,rhu GM-CSF,sargramostim,或LEUKINE®)。在一些实施方案中,该治疗剂可包含aldesleukin(PROLEUKIN®)。在一些实施方案中,该治疗剂可包含IL-12。在一些实施方案中,该治疗剂可包含IL-10。

[0318] 在一些实施方案中,该治疗剂可包含IL-2融合蛋白。在一些实施方案中,该治疗剂可包含tucotuzumab celmoleukin。在一些实施方案中,该治疗剂可包含darleukin。在一些实施方案中,该治疗剂可包含teleukin。

[0319] 在一些实施方案中,该治疗剂可包含IL-10融合蛋白。在一些实施方案中,该治疗剂可包含dekavil。在一些实施方案中,该治疗剂可包含TNF融合蛋白。在一些实施方案中,该治疗剂可包含fibromun。

[0320] 在一些实施方案中,该治疗剂可包含双特异性抗体。在一些实施方案中,该治疗剂可包含双特异性抗体,诸如但不限于duligotuzumab,MM-111,MM141,TF2,ABT-981,ABT-122,LY3164530,SAR156597,GSK2434735,ozoralizumab,ALX-0761,ALX-0061,ALX-0141,ACE910。

[0321] 在一些实施方案中,该治疗剂可包含能够结合T细胞和靶细胞,例如肿瘤细胞的双特异性抗体。在一些实施方案中,该治疗剂可包含特异性结合T细胞上的CD3和靶细胞抗原的双特异性抗体。在一些实施方案中,该治疗剂可包含双特异性T细胞啮合剂(BiTE®)。在一些实施方案中,该治疗剂可包含针对CD3和CD19的双特异性抗体。在一个实施方案中,该双特异性抗体是blinatumomab(BLINCYTO®)。在一个实施方案中,该双特异性抗体是AFM11。在一些实施方案中,该治疗剂可包含针对CD3和EpCAM的双特异性抗体。在一个实施方案中,该双特异性抗体是catumaxomab(REVOMAB®)。在一个实施方案中,该双特异性抗体是solitomab(AMG110,MT110)。在一些实施方案中,该治疗剂可包含针对CD3和Her2的双特异性抗体。在一个实施方案中,该双特异性抗体是ertumaxomab。在一些实施方案中,该治疗剂可包含针对CD3和PSMA的双特异性抗体。在一个实施方案中,该双特异性抗体是BAY2010112(AMG212,MT112)。在一些实施方案中,该治疗剂可包含针对CD3和CEA的双特异性抗体。在一个实施方案中,该双特异性抗体是MEDI565(AMG211,MT111)。在一些实施方案中,该治疗剂可包含针对CD3和CD33的双特异性抗体。在一个实施方案中,该双特异性抗体是AMG330。在一些实施方案中,该治疗剂可包含针对CD3和CD123的双特异性抗体。在一个实施方案中,该双特异性抗体是MGD006。在一个实施方案中,该双特异性抗体是XmAb® 14045。在一些实施方案中,该治疗剂可包含针对CD3和CD38的双特异性抗体。在一些实施方

案中,该治疗剂可包含针对CD3和gpA33的双特异性抗体。在一个实施方案中,该双特异性抗体是MGD007。在一些实施方案中,该治疗剂可包含针对CD3和CD20的双特异性抗体。在一个实施方案中,该双特异性抗体是XmAb®13676。在一个实施方案中,该双特异性抗体是REGN1979。在一个实施方案中,该双特异性抗体是FBTA05 (Lymphomun)。

[0322] 在一些实施方案中,该治疗剂可包含针对CD30和CD16A的双特异性抗体。在一个实施方案中,该双特异性抗体是AFM13。在一些实施方案中,该治疗剂可包含针对DR5和FAP的双特异性抗体。在一些实施方案中,该治疗剂可包含针对Ang2和VEGF的双特异性抗体。在一个实施方案中,该双特异性抗体是vanucizumab。

[0323] 在一些实施方案中,该治疗剂可包含Fc域。在一些实施方案中,该治疗剂可包含包含Fc域的融合蛋白。

[0324] 在一些实施方案中,该治疗剂可包含重组受体或其片段。在一些实施方案中,该受体是T细胞受体。在一些实施方案中,该受体是TNF受体。在一些实施方案中,该治疗剂可包含etanercept (ENBREL®)。在一些实施方案中,该受体是VEGF受体。在一些实施方案中,该治疗剂可包含ziv-aflibercept (ZALTRAP®)。在一些实施方案中,该治疗剂可包含aflibercept (EYLEA®)。在一些实施方案中,该受体是IL-1受体。在一些实施方案中,该治疗剂可包含rilonacept (ARCALYST®)。在一些实施方案中,该治疗剂可包含IMCgp100。在一些实施方案中,该治疗剂可包含嵌合抗原受体(CAR)。在一些实施方案中,该治疗剂可包含因子IX-Fc融合蛋白。在一些实施方案中,该治疗剂可包含因子VIII-Fc融合蛋白。在一些实施方案中,该治疗剂可包含CTLA-4-Fc融合蛋白,诸如例如belatacept, abatacept (ORENCIA®)。在一个实施方案中,该治疗剂可包含romiplostin。

[0325] 在一些实施方案中,该治疗剂可包含重组受体配体,诸如TNF受体配体。

[0326] 在一些实施方案中,该治疗剂可包含本文中提到的药剂,例如抗体的仿制(generic),生物类似(biosimilar)或不可比生物(comparable biologic)型式。

[0327] 在一个实施方案中,该治疗剂不包含奥滨尤妥珠单抗。

[0328] T细胞活化性治疗剂

[0329] 下面更为详细地描述T细胞活化性治疗剂,本发明对其可能是有用的,特别是本发明中关注受试者中与治疗剂的施用相关的细胞因子释放降低的方面。

[0330] 在一些实施方案中,该治疗剂包含特异性结合活化性T细胞抗原的抗体。在一个实施方案中,该治疗剂可包含特异性结合选自CD3,CD28,CD137(也称作4-1BB),CD40,CD226, OX40,GITR,CD27,HVEM,和CD127的组的抗原的抗体。

[0331] 在一个实施方案中,该治疗剂包含特异性结合CD3,特别是CD3 ϵ 的抗体。

[0332] 在一个实施方案中,该治疗剂包含抗体,该抗体是下述抗体或与下述抗体竞争结合:抗体H2C(PCT公开文本No.WO2008/119567),抗体V9(Rodrigues et al.,Int J Cancer Suppl 7,45-50(1992)和美国专利No.6,054,297),抗体FN18(Nooij et al.,Eur J Immunol 19,981-984(1986)),抗体SP34(Pessano et al.,EMBO J 4,337-340(1985)),抗体OKT3(Kung et al.,Science 206,347-349(1979)),抗体WT31(Spits et al.,J Immunol 135,1922(1985)),抗体UCHT1(Burns et al.,J Immunol 129,1451-1457(1982)),抗体7D6

(Coulie et al., Eur J Immunol 21,1703-1709 (1991)) 或抗体Leu-4。在一些实施方案中,该治疗剂还可包含WO 2005/040220,WO 2005/118635,WO 2007/042261,WO 2008/119567,WO 2008/119565,WO 2012/162067,WO 2013/158856,WO 2013/188693,WO 2013/186613,WO 2014/110601,WO 2014/145806,WO 2014/191113,WO 2014/047231,WO 2015/095392,WO 2015/181098,WO 2015/001085,WO 2015/104346,WO 2015/172800,WO 2016/020444,或WO 2016/014974中描述的特异性结合CD3的抗体。

[0333] 在一个实施方案中,该治疗剂可包含特异性结合B细胞抗原,特别是恶性B细胞抗原的抗体。在一个实施方案中,该治疗剂可包含特异性结合选自由CD20,CD19,CD22,ROR-1,CD37和CD5组成的组的抗原,特别是CD20或CD19的抗体。

[0334] 在一些实施方案中,该治疗剂可包含选自rituximab,ocrelizumab,ofatumumab,ocaratzumab,veltuzumab,和ublituximab的抗体。

[0335] 在一些实施方案中,该治疗剂可包含多特异性抗体,特别是双特异性抗体。在一些实施方案中,该治疗剂可包含能够结合T细胞和靶细胞,例如肿瘤细胞的双特异性抗体。在一些实施方案中,该靶细胞是B细胞,特别是恶性B细胞。在一些实施方案中,该治疗剂可包含特异性结合(i)活化性T细胞抗原和(ii)B细胞抗原的双特异性抗体。在一些实施方案中,该治疗剂可包含特异性结合T细胞上的CD3和靶细胞抗原的双特异性抗体。在一些实施方案中,该靶细胞抗原是B细胞抗原,特别是恶性B细胞抗原。在一些实施方案中,该治疗剂可包含双特异性T细胞啮合剂(BiTE®)。

[0336] 在一些实施方案中,该治疗剂可包含针对CD3和CD20的双特异性抗体。在一个实施方案中,该双特异性抗体是XmAb®13676。在一个实施方案中,该双特异性抗体是REGN1979。在一个实施方案中,该双特异性抗体是FBTA05 (Lymphomun)。

[0337] 在一些实施方案中,该治疗剂可包含针对CD3和CD19的双特异性抗体。在一个实施方案中,该双特异性抗体是blinatumomab (BLINCYTO®)。在一个实施方案中,该双特异性抗体是AFM11。在一个实施方案中,该双特异性抗体是MGD011 (JNJ-64052781)。

[0338] 在一些实施方案中,该治疗剂可包含针对CD3和CD38的双特异性抗体。在一个实施方案中,该双特异性抗体是XmAb®13551, XmAb®15426,或XmAb®14702。

[0339] 在一些实施方案中,该治疗剂可包含针对CD3和BCMA的双特异性抗体。在一个实施方案中,该双特异性抗体是BI836909。

[0340] 在一些实施方案中,该治疗剂可包含针对CD3和CD33的双特异性抗体。在一个实施方案中,该双特异性抗体是AMG330。

[0341] 在一些实施方案中,该治疗剂可包含针对CD3和CD123的双特异性抗体。在一个实施方案中,该双特异性抗体是MGD006。在一个实施方案中,该双特异性抗体是XmAb®14045。在一个实施方案中,该双特异性抗体是JNJ-63709178。

[0342] 在一些实施方案中,该治疗剂可包含重组受体或其片段。在一些实施方案中,该受体是T细胞受体 (TCR)。在一些实施方案中,该治疗剂可包含嵌合抗原受体 (CAR)。

[0343] 在一些实施方案中,该治疗剂可包含表达嵌合抗原受体 (CAR) 的T细胞 (例如细胞毒性T细胞或CTL)。在一些实施方案中,该治疗剂可包含表达重组T细胞受体 (TCR) 的T细胞。

[0344] 在一个实施方案中,该治疗剂可包含特异性结合B细胞抗原,特别是恶性B细胞抗

原的CAR。在一个实施方案中,该治疗剂可包含特异性结合选自由CD20,CD19,CD22,ROR-1,CD37和CD5组成的组的抗原,特别是CD20或CD19的CAR。

[0345] 在一些实施方案中,该治疗剂可包含针对CD19的CAR,或表达针对CD19的CAR的T细胞。在一些实施方案中,该治疗剂可包含KTE-C19,CTL019,JCAR-014,JCAR-015,JCAR-017,BPX-401,UCART19,

[0346] 在一些实施方案中,该治疗剂可包含针对CD22的CAR,或表达针对CD22的CAR的T细胞。在一些实施方案中,该治疗剂可包含JCAR-018或UCART22。

[0347] 在一些实施方案中,该治疗剂可包含针对T细胞活化性共刺激分子的激动剂。在一些实施方案中,T细胞活化性共刺激分子可包括CD40,CD226,CD28,OX40,GITR,CD137,CD27,HVEM,或CD127。在一些实施方案中,该针对T细胞活化性共刺激分子的激动剂是结合CD40,CD226,CD28,OX40,GITR,CD137,CD27,HVEM,或CD127的激动性抗体。在一些实施方案中,该治疗剂可包含靶向GITR的抗体。在一些实施方案中,该靶向GITR的抗体是TRX518。

[0348] 在一些实施方案中,该治疗剂可包含针对CD137(也称作TNFRSF9,4-1BB,或ILA)的激动剂,例如活化性抗体。在一些实施方案中,该治疗剂可包含urelumab(也称作BMS-663513)。在一些实施方案中,该治疗剂可包含CD137(也称作TNFRSF9,4-1BB,或ILA)的配体,诸如4-1BBL。在一些实施方案中,该治疗剂可包含针对CD40的激动剂,例如活化性抗体。在一些实施方案中,该治疗剂可包含CP-870893。在一些实施方案中,该治疗剂可包含针对OX40(也称作CD134)的激动剂,例如活化性抗体。在一些实施方案中,该治疗剂可包含抗OX40抗体(例如AgonOX)。在一些实施方案中,该治疗剂可包含OX40的配体,诸如OX40L。在一些实施方案中,该治疗剂可包含针对CD27的激动剂,例如活化性抗体。在一些实施方案中,该治疗剂可包含CDX-1127。

[0349] 特定的治疗剂

[0350] (i)降低抗药物抗体(ADA)形成

[0351] 下面描述的治疗剂在本发明中特别有用,特别是涉及本发明中关注降低受试者中针对治疗剂的抗药物抗体(ADA)形成的方面。

[0352] 在一些实施方案中,该治疗剂包含特异性结合癌胚抗原(CEA)的抗体。

[0353] 在一个实施方案中,该特异性结合CEA的抗体包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:14的重链CDR(HCDR)1,SEQ ID NO:15的HCDR2,和SEQ ID NO:16的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:17的轻链CDR(LCDR)1,SEQ ID NO:18的LCDR2和SEQ ID NO:19的LCDR3。在又一个实施方案中,该特异性结合CEA的抗体包含与SEQ ID NO:20的序列至少80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%,或99%同一的重链可变区序列和与SEQ ID NO:21的序列至少80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%,或99%同一的轻链可变区序列。在又一个实施方案中,该特异性结合CEA的抗体包含SEQ ID NO:20的重链可变区序列和SEQ ID NO:21的轻链可变区序列。

[0354] 在一个实施方案中,该特异性结合CEA的抗体包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:136的重链CDR(HCDR)1,SEQ ID NO:137的HCDR2,和SEQ ID NO:138的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:139的轻链CDR(LCDR)1,SEQ ID NO:140的LCDR2和SEQ ID NO:141的LCDR3。在又一个实施方案中,该特异性结合CEA的抗体包含与SEQ ID NO:142的序列至少80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%,或99%同一的重链可变区序列

和与SEQ ID NO:143的序列至少80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%,或99%同一的轻链可变区序列。在又一个实施方案中,该特异性结合CEA的抗体包含SEQ ID NO:142的重链可变区序列和SEQ ID NO:143的轻链可变区序列。

[0355] 在一个实施方案中,该特异性结合CEA的抗体是全长抗体。在一个实施方案中,该特异性结合CEA的抗体是人IgG类的抗体,特别是人IgG₁类的抗体。在一个实施方案中,该特异性结合CEA的抗体是抗体片段,特别是Fab分子或scFv分子,更加特别是Fab分子。在一个实施方案中,该特异性结合CEA的抗体是人源化抗体。

[0356] 在一些实施方案中,该治疗剂包含特异性结合成纤维细胞活化蛋白(FAP)的抗体。在一个实施方案中,该特异性结合FAP的抗体包含与SEQ ID NO:25的序列至少80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%,或99%同一的重链可变区序列和与SEQ ID NO:26的序列至少80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%,或99%同一的轻链可变区序列。在又一个实施方案中,该特异性结合FAP的抗体包含SEQ ID NO:25的重链可变区序列和SEQ ID NO:26的轻链可变区序列。

[0357] 在一个实施方案中,该特异性结合FAP的抗体是全长抗体。在一个实施方案中,该特异性结合FAP的抗体是人IgG类的抗体,特别是人IgG₁类的抗体。在一个实施方案中,该特异性结合FAP的抗体是抗体片段,特别是Fab分子或scFv分子,更加特别是Fab分子。在一个实施方案中,该特异性结合FAP的抗体是人抗体。

[0358] 在一些实施方案中,该治疗剂包含特异性结合CD3,特别是CD3 ϵ 的抗体。在一个实施方案中,该特异性结合CD3的抗体包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:32的重链CDR(HCDR)1,SEQ ID NO:33的HCDR2,和SEQ ID NO:34的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:35的轻链CDR(LCDR)1,SEQ ID NO:36的LCDR2和SEQ ID NO:37的LCDR3。在又一个实施方案中,该特异性结合CD3的抗体包含与SEQ ID NO:38的序列至少80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%,或99%同一的重链可变区序列和与SEQ ID NO:39的序列至少80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%,或99%同一的轻链可变区序列。在又一个实施方案中,该特异性结合CD3的抗体包含SEQ ID NO:38的重链可变区序列和SEQ ID NO:39的轻链可变区序列。

[0359] 在一个实施方案中,该特异性结合CD3的抗体是全长抗体。在一个实施方案中,该特异性结合CD3的抗体是人IgG类的抗体,特别是人IgG₁类的抗体。在一个实施方案中,该特异性结合CD3的抗体是抗体片段,特别是Fab分子或scFv分子,更加特别是Fab分子。在一个特定的实施方案中,该特异性结合CD3的抗体是交换Fab分子,其中Fab重和轻链的可变域或恒定域交换(即彼此替换)。在一个实施方案中,该特异性结合CD3的抗体是人源化抗体。

[0360] 在一些实施方案中,该治疗剂包含细胞因子。在一个实施方案中,该细胞因子选自由GM-CSF,IL-1 α ,IL-1 β ,IL-2,IL-3,IL-4,IL-5,IL-6,IL-7,IL-8,IL-10,IL-12,IL-15,IFN- α ,IFN- β ,IFN- γ ,MIP-1 α ,MIP-1 β ,TGF- β ,TNF- α ,和TNF- β 组成的组。在一个实施方案中,该细胞因子是IL-2,特别是人IL-2。野生型人IL-2的序列显示于SEQ ID NO:12。

[0361] 在一个实施方案中,该治疗剂包含具有与野生型IL-2相比降低的对IL-2受体 α 亚基的结合亲和力的突变体IL-2多肽。 α 亚基(也称作CD25)与 β 和 γ 亚基(分别也称作CD122和CD132)一起形成异三聚体高亲和力IL-2受体,而仅仅由 β 和 γ 亚基组成的二聚体受体称作中等亲和力IL-2受体。与野生型IL-2多肽相比,具有降低的对IL-2受体 α 亚基的结合的突变

体IL-2多肽具有降低的在调节性T(T_{reg})细胞中诱导IL-2信号传导的能力,在T细胞中诱导更少的活化诱导的细胞死亡(AICD),且在体内具有降低的毒性概况(参见例如WO 2012/107417,通过援引完整收入本文)。

[0362] 在一个更加具体的实施方案中,突变体IL-2多肽包含与人IL-2残基42,45和72对应的位置处的三处氨基酸替代。在一个甚至更加具体的实施方案中,突变体IL-2多肽是包含氨基酸替代F42A,Y45A和L72G(编号方式相对于人IL-2序列SEQ ID NO:12)的人IL-2多肽。在一个实施方案中,突变体IL-2多肽另外包含与人IL-2位置3对应的位置处的氨基酸突变,其消除IL-2的O-糖基化位点。在一个实施方案中,所述与人IL-2残基3对应的位置处消除IL-2的O-糖基化位点的氨基酸突变是选自T3A,T3G,T3Q,T3E,T3N,T3D,T3R,T3K,和T3P的组的氨基酸替代。特别地,所述另外的氨基酸突变是用丙氨酸残基替换苏氨酸残基的氨基酸替代。在本发明中有一种具体突变体IL-2多肽包含与人IL-2残基3,42,45和72对应的位置处的四处氨基酸替代。具体的氨基酸替代是T3A,F42A,Y45A和L72G。这种突变体IL-2多肽展现检测不到的对CD25的结合,降低的在T细胞中诱导凋亡的能力,降低的在 T_{reg} 细胞中诱导IL-2信号传导的能力,和降低的体内毒性概况(参见例如WO 2012/107417,通过援引完整收入本文)。然而,它保留在效应细胞中激活IL-2信号传导,诱导效应细胞增殖,和由NK细胞生成IFN- γ 作为次级细胞因子的能力。

[0363] 依照任何上述实施方案的IL-2或突变体IL-2多肽可包含另外的突变,其提供别的优点,诸如升高的表达或稳定性。例如,位置125处的半胱氨酸可以用中性氨基酸,诸如丝氨酸,丙氨酸,苏氨酸或缬氨酸替换,分别产生C125S IL-2,C125A IL-2,C125T IL-2或C125V IL-2,如美国专利No.4,518,584中描述的。如其中描述的,还可以删除IL-2的N端丙氨酸残基,产生诸如des-A1 C125S或des-A1 C125A等突变体。或者/另外,IL-2突变体可包括野生型人IL-2位置104处正常存在的甲硫氨酸用中性氨基酸,诸如丙氨酸替换的突变(参见美国专利No.5,206,344)。所得突变体,例如des-A1 M104A IL-2,des-A1 M104A C125S IL-2,M104A IL-2,M104A C125A IL-2,des-A1 M104A C125A IL-2,或M104A C125S IL-2(这些和其它突变体可见于美国专利No.5,116,943和Weiger et al.,Eur J Biochem 180,295-300 (1989))可以与本文中描述的特定IL-2突变联合使用。

[0364] 如此,在某些实施方案中,IL-2或突变体IL-2多肽包含与人IL-2残基125对应的位置处的另外的氨基酸突变。在一个实施方案中,所述另外的氨基酸突变是氨基酸替代C125A。

[0365] 在某些实施方案中,突变体IL-2多肽本质上是全长IL-2分子,特别是人全长IL-2分子。在一个实施方案中,突变体IL-2多肽包含与SEQ ID NO:12的序列至少80%,至少85%,或至少90%同一的多肽序列。

[0366] 在一个具体的实施方案中,突变体IL-2多肽包含SEQ ID NO:13的多肽序列。

[0367] 在一些实施方案中,该治疗剂包含免疫缀合物。特定的免疫缀合物描述于WO 2012/107417和WO 2012/146628(均通过援引完整收入本文)。

[0368] 在一个实施方案中,该免疫缀合物包含本文中描述的特异性结合CEA的抗体和本文中描述的突变体IL-2多肽。在一个实施方案中,该抗体是全长抗体。

[0369] 在一个实施方案中,该治疗剂包含免疫缀合物,其包含

[0370] (i) 人IgG1亚类的抗体,其特异性结合CEA且包含重链可变区,该重链可变区包含

SEQ ID NO:14的重链CDR(HCDR)1,SEQ ID NO:15的HCDR2,和SEQ ID NO:16的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:17的轻链CDR(LCDR)1,SEQ ID NO:18的LCDR2和SEQ ID NO:19的LCDR3;和

[0371] (ii) 突变型人IL-2多肽,其包含氨基酸替代F42A,Y45A和L72G(编号方式相对于人IL-2序列SEQ ID NO:12)。

[0372] 在一个实施方案中,该免疫缀合物包含本文中描述的特异性结合FAP的抗体和本文中描述的突变体IL-2多肽。在一个实施方案中,该抗体是全长抗体。

[0373] 在一个实施方案中,该治疗剂包含免疫缀合物,其包含

[0374] (i) 人IgG₁亚类的抗体,其特异性结合FAP且包含SEQ ID NO:25的重链可变区和SEQ ID NO:26的轻链可变区;和

[0375] (ii) 突变型人IL-2多肽,其包含氨基酸替代F42A,Y45A和L72G(编号方式相对于人IL-2序列SEQ ID NO:12)。

[0376] 在一个实施方案中,该免疫缀合物包含不超过一个突变体IL-2多肽。在一个实施方案中,该突变体IL-2多肽融合至该抗体重链之一的羧基端氨基酸,任选经由接头肽。合适的非免疫原性接头肽包括例如(G₄S)_n, (SG₄)_n或G₄(SG₄)_n接头肽,其中n一般是1和10之间,典型地2和4之间的数目。在一个实施方案中,该接头肽是(G₄S)₃。

[0377] 在一个实施方案中,该免疫缀合物包含:包含与SEQ ID NO:22的序列至少80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 或99%同一的序列的多肽,包含与SEQ ID NO:23的序列至少80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 或99%同一的序列的多肽,和包含与SEQ ID NO:24的序列至少80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 或99%同一的序列的多肽。

[0378] 在一个实施方案中,该免疫缀合物包含:包含SEQ ID NO:22的序列的多肽,包含SEQ ID NO:23的序列的多肽,和包含SEQ ID NO:24的序列的多肽。

[0379] 在一个实施方案中,该免疫缀合物是cergutuzumab amunaleukin(参见WHO药物信息(药用物质的国际非专有名称),推荐的INN:List 75,2016,出版前拷贝(通过援引完整收入本文))。

[0380] 在一个实施方案中,该免疫缀合物包含:包含与SEQ ID NO:27的序列至少80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 或99%同一的序列的多肽,包含与SEQ ID NO:28的序列至少80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 或99%同一的序列的多肽,和包含与SEQ ID NO:29的序列至少80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 或99%同一的序列的多肽。

[0381] 在一个实施方案中,该免疫缀合物包含:包含SEQ ID NO:27的序列的多肽,包含SEQ ID NO:28的序列的多肽,和包含SEQ ID NO:29的序列的多肽。

[0382] 在一个实施方案中,该治疗剂包含双特异性抗体。特定的双特异性抗体描述于PCT公开文本No.WO 2013/026833和WO 2014/131712和PCT申请No.PCT/EP2016/073171(均通过援引完整收入本文)。

[0383] 在一个实施方案中,该双特异性抗体包含本文中描述的特异性结合CEA的抗体和本文中描述的特异性结合CD3的抗体。在一个实施方案中,该双特异性抗体包含本文中描述的特异性结合CD3的第一抗体和本文中描述的特异性结合CEA的第二和第三抗体。在一个实施方案中,该第一抗体是本文中描述的交换Fab分子,且该第二和该第一抗体每一个是常规Fab分子。在一个实施方案中,该双特异性抗体进一步包含本文中描述的Fc域。该双特异性

抗体可具有本文中描述的抗体格式且可包含本文中描述的抗原结合模块。该双特异性抗体可包含本文中描述的抗原结合模块和/或Fc区中的修饰。

[0384] 在一个实施方案中,该治疗剂包含双特异性抗体,其包含

[0385] (i) 特异性结合CD3的第一抗原结合模块,其包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:32的重链CDR (HCDR) 1,SEQ ID NO:33的HCDR2,和SEQ ID NO:34的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:35的轻链CDR (LCDR) 1,SEQ ID NO:36的LCDR2和SEQ ID NO:37的LCDR3,其中该第一抗原结合模块是交换Fab分子,其中Fab轻链和Fab重链的可变或恒定区任一,特别是恒定区是交换的;

[0386] (ii) 特异性结合CEA的第二和第三抗原结合模块,其包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:14的重链CDR (HCDR) 1,SEQ ID NO:15的HCDR2,和SEQ ID NO:16的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:17的轻链CDR (LCDR) 1,SEQ ID NO:18的LCDR2和SEQ ID NO:19的LCDR3,其中该第二和第三抗原结合模块每一个是Fab分子,特别是常规Fab分子;

[0387] (iii) 由能够稳定联合的第一和第二亚基构成的Fc域,

[0388] 其中该第二抗原结合模块在Fab重链的C端融合至该第一抗原结合模块的Fab重链的N端,且该第一抗原结合模块在Fab重链的C端融合至该Fc域的第一亚基的N端,且其中该第三抗原结合模块在Fab重链的C端融合至该Fc域的第二亚基的N端。

[0389] 在一个实施方案中,该特异性结合CD3的第一抗原结合模块包含SEQ ID NO:38的重链可变区和SEQ ID NO:39的轻链可变区。在一个实施方案中,该特异性结合CEA的第二和第三抗原结合模块包含SEQ ID NO:20的重链可变区和SEQ ID NO:21的轻链可变区。

[0390] 在一个实施方案中,该抗原结合模块和该Fc区通过肽接头,特别是SEQ ID NO:42和SEQ ID NO:43中的肽接头彼此融合。在一个实施方案中,该双特异性抗体包含:包含与SEQ ID NO:40的序列至少80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%,或99%同一的序列的多肽,包含与SEQ ID NO:41的序列至少80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%,或99%同一的序列的多肽,包含与SEQ ID NO:42的序列至少80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%,或99%同一的序列的多肽,和包含与SEQ ID NO:43的序列至少80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%,或99%同一的序列的多肽。

[0391] 在一个实施方案中,该双特异性抗体包含:包含SEQ ID NO:40的序列的多肽,包含SEQ ID NO:41的序列的多肽,包含SEQ ID NO:42的序列的多肽,和包含SEQ ID NO:43的序列的多肽(CEA TCB)。

[0392] 在一个实施方案中,该治疗剂抗体包含双特异性抗体,其包含

[0393] (i) 特异性结合CD3的第一抗原结合模块,其包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:32的重链CDR (HCDR) 1,SEQ ID NO:33的HCDR2,和SEQ ID NO:34的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:35的轻链CDR (LCDR) 1,SEQ ID NO:36的LCDR2和SEQ ID NO:37的LCDR3,其中该第一抗原结合模块是交换Fab分子,其中Fab轻链和Fab重链的可变或恒定区任一,特别是可变区是交换的;

[0394] (ii) 特异性结合CEA的第二和第三抗原结合模块,其包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:136的重链CDR (HCDR) 1,SEQ ID NO:137的HCDR2,和SEQ ID NO:138的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:139的轻链CDR (LCDR) 1,SEQ ID NO:

140的LCDR2和SEQ ID NO:141的LCDR3,其中该第二和第三抗原结合模块每一个是Fab分子,特别是常规Fab分子;

[0395] (iii) 由能够稳定联合的第一和第二亚基构成的Fc域,

[0396] 其中该第二抗原结合模块在Fab重链的C端融合至该第一抗原结合模块的Fab重链的N端,且该第一抗原结合模块在Fab重链的C端融合至该Fc域的第一亚基的N端,且其中该第三抗原结合模块在Fab重链的C端融合至该Fc域的第二亚基的N端。

[0397] 在一个实施方案中,该特异性结合CD3的第一抗原结合模块包含SEQ ID NO:38的重链可变区和SEQ ID NO:39的轻链可变区。在一个实施方案中,该特异性结合CEA的第二和第三抗原结合模块包含SEQ ID NO:142的重链可变区和SEQ ID NO:143的轻链可变区。

[0398] 在一个实施方案中,该抗原结合模块和该Fc区通过肽接头,特别是SEQ ID NO:145和SEQ ID NO:146中的肽接头彼此融合。

[0399] 在一个实施方案中,在(ii)下的第二和第三Fab分子的恒定域CL中,位置124处的氨基酸用赖氨酸(K)替代(编号方式依照Kabat)且位置123处的氨基酸用赖氨酸(K)或精氨酸(R),特别是精氨酸(R)替代(编号方式依照Kabat),且在(ii)下的第二和该第三Fab分子的恒定域CH1中,位置147处的氨基酸用谷氨酸(E)替代(编号方式依照Kabat EU索引)且位置213处的氨基酸用谷氨酸(E)替代(编号方式依照Kabat EU索引)。

[0400] 在一个实施方案中,该双特异性抗体包含:包含与SEQ ID NO:144的序列至少80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%,或99%同一的序列的多肽,包含与SEQ ID NO:145的序列至少80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%,或99%同一的序列的多肽,包含与SEQ ID NO:146的序列至少80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%,或99%同一的序列的多肽,和包含与SEQ ID NO:147的序列至少80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%,或99%同一的序列的多肽。

[0401] 在一个实施方案中,该双特异性抗体包含:包含SEQ ID NO:144的序列的多肽,包含SEQ ID NO:145的序列的多肽,包含SEQ ID NO:146的序列的多肽,和包含SEQ ID NO:147的序列的多肽。

[0402] (ii) 降低细胞因子释放

[0403] 下面描述的治疗剂在本发明中特别有用,特别是涉及本发明中关注降低受试者中与治疗剂的施用相关的细胞因子释放的方面。

[0404] 本发明中关注降低受试者中与治疗剂的施用相关的细胞因子释放的方面在联合在受试者中活化T细胞(T细胞活化性治疗剂),即具有在受试者中诱导T细胞活化的能力的治疗剂时特别有用。此类治疗剂包括例如针对T细胞抗原(特别是活化性T细胞抗原)的抗体,或用嵌合抗原受体(CAR)或重组T细胞受体(TCR)修饰的T细胞。本发明中关注降低受试者中与治疗剂的施用相关的细胞因子释放的方面在联合B细胞靶向性T细胞活化性治疗剂时特别有用。

[0405] 在一些实施方案中,该治疗剂包含特异性结合CD3,特别是CD3 ϵ 的抗体。

[0406] 在一个实施方案中,该特异性结合CD3的抗体包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:32的重链CDR(HCDR)1,SEQ ID NO:33的HCDR2,和SEQ ID NO:34的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:35的轻链CDR(LCDR)1,SEQ ID NO:36的LCDR2和SEQ ID NO:37的LCDR3。在又一个实施方案中,该特异性结合CD3的抗体包含与SEQ ID NO:38的

序列至少80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%,或99%同一的重链可变区序列和与SEQ ID NO:39的序列至少80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%,或99%同一的轻链可变区序列。在又一个实施方案中,该特异性结合CD3的抗体包含SEQ ID NO:38的重链可变区序列和SEQ ID NO:39的轻链可变区序列。

[0407] 在一个实施方案中,该特异性结合CD3的抗体包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:120的重链HVR 1(H1-HVR),SEQ ID NO:121的H2-HVR,和SEQ ID NO:122的H3-HVR;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:123的轻链HVR 1(L1-HVR),SEQ ID NO:124的L2-HVR和SEQ ID NO:125的L3-HVR。在又一个实施方案中,该特异性结合CD3的抗体包含与SEQ ID NO:126的序列至少80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%,或99%同一的重链可变区序列和与SEQ ID NO:127的序列至少80%,85%,90%,95%,96%,97%,98%,或99%同一的轻链可变区序列。在又一个实施方案中,该特异性结合CD3的抗体包含SEQ ID NO:126的重链可变区序列和SEQ ID NO:127的轻链可变区序列。

[0408] 在一个实施方案中,该特异性结合CD3的抗体是全长抗体。在一个实施方案中,该特异性结合CD3的抗体是人IgG类的抗体,特别是人IgG₁类的抗体。在一个实施方案中,该特异性结合CD3的抗体是抗体片段,特别是Fab分子或scFv分子,更加特别是Fab分子。在一个特定的实施方案中,该特异性结合CD3的抗体是交换Fab分子,其中Fab重和轻链的可变域或恒定域交换(即彼此替换)。在一个实施方案中,该特异性结合CD3的抗体是人源化抗体。

[0409] 在一个实施方案中,该治疗剂包含多特异性抗体,特别是双特异性抗体。在一个实施方案中,该多特异性抗体特异性结合(i)活化性T细胞抗原和(ii)B细胞抗原。特定的双特异性抗体描述于PCT公开文本No.WO2016/020309和PCT申请No.PCT/EP2016/073041,以及PCT公开文本No.WO2015/095392(均通过援引完整收入本文)。

[0410] 在一个实施方案中,该双特异性抗体特异性结合CD3和CD20。在一个实施方案中,该双特异性抗体包含特异性结合CD20的抗原结合模块和特异性结合CD3的抗原结合模块。在一个实施方案中,该双特异性抗体包含特异性结合CD3的第一抗原结合模块和特异性结合CD20的第二和第三抗原结合模块。在一个实施方案中,该第一抗原结合模块是交换Fab分子,且该第二和该第三抗原结合模块每一个是常规Fab分子。在一个实施方案中,该双特异性抗体进一步包含Fc域。该双特异性抗体可具有本文中描述的抗体格式且可包含本文中描述的抗原结合模块。该双特异性抗体可包含本文中描述的抗原结合模块和/或Fc区中的修饰。

[0411] 在一个实施方案中,该治疗剂包含双特异性抗体,其包含

[0412] (i) 特异性结合CD3的抗原结合模块,其包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:32的重链CDR(HCDR)1,SEQ ID NO:33的HCDR2,和SEQ ID NO:34的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:35的轻链CDR(LCDR)1,SEQ ID NO:36的LCDR2和SEQ ID NO:37的LCDR3;和

[0413] (ii) 特异性结合CD20的抗原结合模块,其包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:4的重链CDR(HCDR)1,SEQ ID NO:5的HCDR2,和SEQ ID NO:6的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:7的轻链CDR(LCDR)1,SEQ ID NO:8的LCDR2和SEQ ID NO:9的LCDR3。

[0414] 在一个实施方案中,该治疗剂包含双特异性抗体,其包含

[0415] (i) 特异性结合CD3的抗原结合模块,其包含SEQ ID NO:38的重链可变区和SEQ ID NO:39的轻链可变区;和

[0416] (ii) 特异性结合CD20的抗原结合模块,其包含SEQ ID NO:10的重链可变区和SEQ ID NO:11的轻链可变区。

[0417] 在一个特定的实施方案中,该治疗剂包含双特异性抗体,其包含

[0418] a) 特异性结合第一抗原的第一Fab分子;

[0419] b) 特异性结合第二抗原的第二Fab分子,且其中Fab轻链和Fab重链的可变域VL和VH彼此替换;

[0420] c) 特异性结合该第一抗原的第三Fab分子;和

[0421] d) 由能够稳定联合的第一和第二亚基构成的Fc域;

[0422] 其中

[0423] (i) 该第一抗原是CD20且该第二抗原是CD3,特别是CD3 ϵ ;

[0424] (ii) a) 下的第一Fab分子和c) 下的第三Fab分子每一个包含SEQ ID NO:4的重链互补决定区(CDR)1,SEQ ID NO:5的重链CDR 2,SEQ ID NO:6的重链CDR 3,SEQ ID NO:7的轻链CDR 1,SEQ ID NO:8的轻链CDR 2和SEQ ID NO:9的轻链CDR 3,且b) 下的第二Fab分子包含SEQ ID NO:32的重链CDR1,SEQ ID NO:33的重链CDR 2,SEQ ID NO:34的重链CDR 3,SEQ ID NO:35的轻链CDR 1,SEQ ID NO:36的轻链CDR 2和SEQ ID NO:37的轻链CDR3;

[0425] (iii) 在a) 下的第一Fab分子和c) 下的第三Fab分子的恒定域CL中,位置124处的氨基酸用赖氨酸(K) 替代(编号方式依照Kabat) 且位置123处的氨基酸用赖氨酸(K) 或精氨酸(R),特别是精氨酸(R) 替代(编号方式依照Kabat),且其中在a) 下的第一Fab分子和c) 下的第三Fab分子的恒定域CH1中,位置147处的氨基酸用谷氨酸(E) 替代(编号方式依照Kabat EU索引) 且位置213处的氨基酸用谷氨酸(E) 替代(编号方式依照Kabat EU索引);且

[0426] (iv) a) 下的第一Fab分子在Fab重链的C端融合至b) 下的第二Fab分子的Fab重链的N端,且b) 下的第二Fab分子和c) 下的第三Fab分子每一个在Fab重链的C端融合至d) 下的Fc域的亚基之一的N端。

[0427] 在一个实施方案中,a) 下的第一Fab分子和c) 下的第三Fab分子每一个包含与SEQ ID NO:10的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的重链可变区和与SEQ ID NO:11的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的轻链可变区。

[0428] 在一个实施方案中,a) 下的第一Fab分子和c) 下的第三Fab分子每一个包含SEQ ID NO:10的重链可变区序列和SEQ ID NO:11的轻链可变区序列。

[0429] 在一个实施方案中,b) 下的第二Fab分子包含与SEQ ID NO:38的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的重链可变区和与SEQ ID NO:39的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的轻链可变区。

[0430] 在仍有又一个实施方案中,b) 下的第二Fab分子包含SEQ ID NO:38的重链可变区序列和SEQ ID NO:39的轻链可变区序列。

[0431] 在一个特定的实施方案中,该双特异性抗体包含与SEQ ID NO:44的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的多肽,与SEQ ID NO:45的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的多肽,与SEQ ID NO:46的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的多肽,和与SEQ ID NO:47的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的多肽。在又一

个特定实施方案中,该双特异性抗体包含SEQ ID NO:44的多肽序列,SEQ ID NO:45的多肽序列,SEQ ID NO:46的多肽序列和SEQ ID NO:47的多肽序列(CD20XCD3 bsAB)。

[0432] 在一个实施方案中,该治疗剂包含双特异性抗体,其包含

[0433] (i) 特异性结合CD3的抗原结合模块,其包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:120的重链HVR 1(H1-HVR),SEQ ID NO:121的H2-HVR,和SEQ ID NO:122的H3-HVR;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:123的轻链HVR 1(L1-HVR),SEQ ID NO:124的L2-HVR和SEQ ID NO:125的L3-HVR;和

[0434] (ii) 特异性结合CD20的抗原结合模块,其包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:128的重链HVR 1(H1-HVR),SEQ ID NO:129的H2-HVR,和SEQ ID NO:130的H3-HVR;和轻链可变区,该轻链可变区包含该SEQ ID NO:131的轻链HVR 1(L1-HVR),SEQ ID NO:132的L2-HVR和SEQ ID NO:133的L3-HVR。

[0435] 在一个实施方案中,该治疗剂包含双特异性抗体,其包含

[0436] (i) 特异性结合CD3的抗原结合模块,其包含SEQ ID NO:126的重链可变区和SEQ ID NO:127的轻链可变区;和

[0437] (ii) 特异性结合CD20的抗原结合模块,其包含SEQ ID NO:134的重链可变区和SEQ ID NO:135的轻链可变区。

[0438] 在一个实施方案中,该双特异性抗体包含特异性结合CD19的抗原结合模块和特异性结合CD3的抗原结合模块。在一个实施方案中,该双特异性抗体包含特异性结合CD3的第一抗原结合模块和特异性结合CD19的第二和第三抗原结合模块。在一个实施方案中,该第一抗原结合模块是交换Fab分子,且该第二和该第一抗原结合模块每一个是常规Fab分子。在一个实施方案中,该双特异性抗体进一步包含Fc域。该双特异性抗体可包含本文中描述的抗原结合模块和/或Fc区中的修饰。

[0439] 在一个实施方案中,该治疗剂包含双特异性抗体,其包含

[0440] (i) 特异性结合CD3的抗原结合模块,其包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:32的重链CDR(HCDR)1,SEQ ID NO:33的HCDR2,和SEQ ID NO:34的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:35的轻链CDR(LCDR)1,SEQ ID NO:36的LCDR2和SEQ ID NO:37的LCDR3;和

[0441] (ii) 特异性结合CD19的抗原结合模块,其包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:48的重链CDR(HCDR)1,SEQ ID NO:49的HCDR2,和SEQ ID NO:50的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:51的轻链CDR(LCDR)1,SEQ ID NO:52的LCDR2和SEQ ID NO:53的LCDR3。

[0442] 在一个实施方案中,该治疗剂包含双特异性抗体,其包含

[0443] (i) 特异性结合CD3的抗原结合模块,其包含SEQ ID NO:38的重链可变区和SEQ ID NO:39的轻链可变区;和

[0444] (ii) 特异性结合CD19的抗原结合模块,其包含SEQ ID NO:54的重链可变区和SEQ ID NO:55的轻链可变区。

[0445] 在一个特定的实施方案中,该治疗剂包含双特异性抗体,其包含

[0446] a) 特异性结合第一抗原的第一Fab分子;

[0447] b) 特异性结合第二抗原的第二Fab分子,和其中Fab轻链和Fab重链的可变域VL和

VH彼此替换;

[0448] c) 特异性结合该第一抗原的第三Fab分子;和

[0449] d) 由能够稳定联合的第一和第二亚基构成的Fc域;

[0450] 其中

[0451] (i) 该第一抗原是CD19且该第二抗原是CD3,特别是CD3 ϵ ;

[0452] (ii) a) 下的第一Fab分子和c) 下的第三Fab分子每一个包含SEQ ID NO:48的重链互补决定区(CDR)1,SEQ ID NO:49的重链CDR 2,SEQ ID NO:50的重链CDR 3,SEQ ID NO:51的轻链CDR 1,SEQ ID NO:52的轻链CDR 2和SEQ ID NO:53的轻链CDR 3,且b) 下的第二Fab分子包含SEQ ID NO:32的重链CDR 1,SEQ ID NO:33的重链CDR 2,SEQ ID NO:34的重链CDR 3,SEQ ID NO:35的轻链CDR 1,SEQ ID NO:36的轻链CDR 2和SEQ ID NO:37的轻链CDR 3;

[0453] (iii) 在a) 下的第一Fab分子和c) 下的第三Fab分子的恒定域CL中,位置124处的氨基酸用赖氨酸(K) 替代(编号方式依照Kabat) 且位置123处的氨基酸用赖氨酸(K) 或精氨酸(R),特别是精氨酸(R) 替代(编号方式依照Kabat),且其中在a) 下的第一Fab分子和c) 下的第三Fab分子的恒定域CH1中,位置147处的氨基酸用谷氨酸(E) 替代(编号方式依照Kabat EU索引) 且位置213处的氨基酸用谷氨酸(E) 替代(编号方式依照Kabat EU索引);且

[0454] (iv) a) 下的第一Fab分子在Fab重链的C端融合至b) 下的第二Fab分子Fab重链的N端,且b) 下的第二Fab分子和c) 下的第三Fab分子每一个在Fab重链的C端融合至d) 下的Fc域的亚基之一的N端。

[0455] 在一个实施方案中,a) 下的第一Fab分子和c) 下的第三Fab分子每一个包含与SEQ ID NO:54的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的重链可变区和与SEQ ID NO:55的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的轻链可变区。

[0456] 在一个实施方案中,a) 下的第一Fab分子和c) 下的第三Fab分子每一个包含SEQ ID NO:54的重链可变区序列和SEQ ID NO:55的轻链可变区序列。

[0457] 在一个实施方案中,b) 下的第二Fab分子包含与SEQ ID NO:38的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的重链可变区和与SEQ ID NO:39的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的轻链可变区。

[0458] 在仍有又一个实施方案中,b) 下的第二Fab分子包含SEQ ID NO:38的重链可变区序列和SEQ ID NO:39的轻链可变区序列。

[0459] 在一个特定的实施方案中,该双特异性抗体包含与SEQ ID NO:47的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的多肽,与SEQ ID NO:56的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的多肽,与SEQ ID NO:57的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的多肽,和与SEQ ID NO:58的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的多肽。在又一个特定实施方案中,该双特异性抗体包含SEQ ID NO:47的多肽序列,SEQ ID NO:56的多肽序列,SEQ ID NO:57的多肽序列和SEQ ID NO:58的多肽序列。

[0460] 在一个实施方案中,该治疗剂包含双特异性抗体,其包含

[0461] (i) 特异性结合CD3的抗原结合模块,其包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:32的重链CDR(HCDR)1,SEQ ID NO:33的HCDR2,和SEQ ID NO:34的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:35的轻链CDR(LCDR)1,SEQ ID NO:36的LCDR2和SEQ ID NO:37的LCDR3;和

[0462] (ii) 特异性结合CD19的抗原结合模块,其包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:59的重链CDR (HCDR) 1,SEQ ID NO:60的HCDR2,和SEQ ID NO:61的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:62的轻链CDR (LCDR) 1,SEQ ID NO:63的LCDR2和SEQ ID NO:64的LCDR3。

[0463] 在一个实施方案中,该治疗剂包含双特异性抗体,其包含

[0464] (i) 特异性结合CD3的抗原结合模块,其包含SEQ ID NO:38的重链可变区和SEQ ID NO:39的轻链可变区;和

[0465] (ii) 特异性结合CD19的抗原结合模块,其包含SEQ ID NO:65的重链可变区和SEQ ID NO:66的轻链可变区。

[0466] 在一个特定的实施方案中,该治疗剂包含双特异性抗体,其包含

[0467] a) 特异性结合第一抗原的第一Fab分子;

[0468] b) 特异性结合第二抗原的第二Fab分子,和其中Fab轻链和Fab重链的可变域VL和VH彼此替换;

[0469] c) 特异性结合该第一抗原的第三Fab分子;和

[0470] d) 由能够稳定联合的第一和第二亚基构成的Fc域;

[0471] 其中

[0472] (i) 该第一抗原是CD19且该第二抗原是CD3,特别是CD3 ϵ ;

[0473] (ii) a) 下的第一Fab分子和c) 下的第三Fab分子每一个包含SEQ ID NO:59的重链互补决定区 (CDR) 1,SEQ ID NO:60的重链CDR 2,SEQ ID NO:61的重链CDR 3,SEQ ID NO:62的轻链CDR 1,SEQ ID NO:63的轻链CDR 2和SEQ ID NO:64的轻链CDR 3,且b) 下的第二Fab分子包含SEQ ID NO:32的重链CDR 1,SEQ ID NO:33的重链CDR 2,SEQ ID NO:34的重链CDR 3,SEQ ID NO:35的轻链CDR 1,SEQ ID NO:36的轻链CDR 2和SEQ ID NO:37的轻链CDR 3;

[0474] (iii) 在a) 下的第一Fab分子和c) 下的第三Fab分子的恒定域CL中,位置124处的氨基酸用赖氨酸(K) 替代(编号方式依照Kabat) 且位置123处的氨基酸用赖氨酸(K) 或精氨酸(R),特别是精氨酸(R) 替代(编号方式依照Kabat),且其中在a) 下的第一Fab分子和c) 下的第三Fab分子的恒定域CH1中,位置147处的氨基酸用谷氨酸(E) 替代(编号方式依照Kabat EU索引) 且位置213处的氨基酸用谷氨酸(E) 替代(编号方式依照Kabat EU索引);和

[0475] (iv) a) 下的第一Fab分子在Fab重链的C端融合至b) 下的第二Fab分子的Fab重链的N端,且b) 下的第二Fab分子和c) 下的第三Fab分子每一个在Fab重链的C端融合至d) 下的Fc域的亚基之一的N端。

[0476] 在一个实施方案中,a) 下的第一Fab分子和c) 下的第三Fab分子每一个包含与SEQ ID NO:65的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的重链可变区和与SEQ ID NO:66的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的轻链可变区。

[0477] 在一个实施方案中,a) 下的第一Fab分子和c) 下的第三Fab分子每一个包含SEQ ID NO:65的重链可变区序列和SEQ ID NO:66的轻链可变区序列。

[0478] 在一个实施方案中,b) 下的第二Fab分子包含与SEQ ID NO:38的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的重链可变区和与SEQ ID NO:39的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的轻链可变区。

[0479] 在仍有又一个实施方案中,b) 下的第二Fab分子包含SEQ ID NO:38的重链可变区

序列和SEQ ID NO:39的轻链可变区序列。

[0480] 在一个特定的实施方案中,该双特异性抗体包含与SEQ ID NO:47的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的多肽,与SEQ ID NO:148的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的多肽,与SEQ ID NO:149的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的多肽,和与SEQ ID NO:150的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的多肽。在又一个特定实施方案中,该双特异性抗体包含SEQ ID NO:47的多肽序列,SEQ ID NO:148的多肽序列,SEQ ID NO:149的多肽序列和SEQ ID NO:150的多肽序列。

[0481] 抗体格式

[0482] 治疗剂中包含的抗体,特别是多特异性抗体的各组分可以以多种构造彼此融合。例示性的构造绘于图6中。

[0483] 在具体的实施方案中,抗体中包含的抗原结合模块是Fab分子。在此类实施方案中,第一,第二,第三等抗原结合模块在本文中分别可以称作第一,第二,第三等Fab分子。而且,在具体的实施方案中,抗体包含由能够稳定联合的第一亚基和第二亚基构成的Fc域。

[0484] 在一些实施方案中,第二Fab分子在Fab重链的C端融合至Fc域的第一或第二亚基的N端。

[0485] 在一个此类类实施方案中,第一Fab分子在Fab重链的C端融合至第二Fab分子的Fab重链的N端。在一个特定的此类实施方案中,抗体基本由以下组成:第一和第二Fab分子,由第一亚基和第二亚基构成的Fc域,和任选的一个或多个肽接头,其中第一Fab分子在Fab重链的C端融合至第二Fab分子的Fab重链的N端,且第二Fab分子在Fab重链的C端融合至Fc域的第一或第二亚基的N端。此类构造示意性描绘于图6G和6K。任选地,第一Fab分子的Fab轻链和第二Fab分子的Fab轻链可以另外彼此融合。

[0486] 在另一个此类实施方案中,第一Fab分子在Fab重链的C端融合至Fc域的第一或第二亚基的N端。在一个特定的此类实施方案中,抗体基本由以下组成:第一和第二Fab分子,由第一和第二亚基构成的Fc域和任选地一个或多个肽接头,其中第一和第二Fab分子各自在Fab重链的C端融合至Fc域的亚基之一的N端。此类构造示意性描绘于图6A和6D。第一和第二Fab分子可以直接或经由肽接头融合至Fc域。在一个具体的实施方案中,第一和第二Fab分子各自经由免疫球蛋白铰链区融合至Fc域。在一个具体的实施方案中,所述免疫球蛋白铰链区是人IgG₁铰链区,特别是在Fc域是IgG₁ Fc域的情况中。

[0487] 在其它实施方案中,第一Fab分子在Fab重链的C端融合至Fc域的第一或第二亚基的N端。

[0488] 在一个此类实施方案中,第二Fab分子在Fab重链的C端融合至第一Fab分子的Fab重链的N端。在一个具体的此类实施方案中,抗体基本由以下组成:第一和第二Fab分子,由第一和第二亚基构成的Fc域和任选地一个或多个肽接头,其中第二Fab分子在Fab重链的C端融合至第一Fab分子的Fab重链的N端,且第一Fab分子在Fab重链的C端融合至Fc域的第一或第二亚基的N端。此类构造示意性描绘于图6H和6L。任选地,第一Fab分子的Fab轻链和第二Fab分子的Fab轻链可以另外彼此融合。

[0489] Fab分子可以直接或经由肽接头融合至Fc域或彼此融合,所述肽接头包含一个或多个氨基酸,通常约2-20个氨基酸。肽接头是本领域中已知且本文中记载的。合适的,非免疫原性的肽接头包括例如 $(G_4S)_n$, $(SG_4)_n$, $(G_4S)_n$ 或 $G_4(SG_4)_n$ 肽接头。“n”一般是1至10,通常是

2至4的整数。在一个实施方案中,所述肽接头具有至少5个氨基酸的长度,在一个实施方案中5至100个氨基酸的长度,在又一个实施方案中10至50个氨基酸的长度。在一个实施方案中,所述肽接头是 $(G_xS)_n$ 或 $(G_xS)_nG_m$,其中G=甘氨酸,S=丝氨酸,且 $(x=3,n=3,4,5$ 或 $6,和m=0,1,2$ 或 $3)$ 或 $(x=4,n=2,3,4$ 或 $5和m=0,1,2$ 或 $3)$,在一个实施方案中, $x=4$ 和 $n=2$ 或 3 ,在又一个实施方案中, $x=4$ 和 $n=2$ 。在一个实施方案中,所述肽接头是 $(G_4S)_2$ 。一种特别适合于将第一和第二Fab分子的Fab轻链彼此融合的肽接头是 $(G_4S)_2$ 。一种适合于连接第一和第二Fab片段的Fab重链的例示性肽接头包含序列(D)-(G₄S)₂(SEQ ID NO118和119)。另一种合适的此类接头包含序列 $(G_4S)_4$ 。另外,接头可包含免疫球蛋白铰链区(的一部分)。特别地,当Fab分子融合至Fc域亚基的N端时,其可以在有或无另外的肽接头的情况下经由免疫球蛋白铰链区或其部分融合。

[0490] 具有单个能够特异性结合靶细胞抗原的抗原结合模块(诸如Fab分子)的抗体(例如如图6A,D,G,H,K,L中显示的)是有用的,特别是在高亲和力抗原结合模块结合后预期靶细胞抗原内在化的情况中。在此类情况中,存在超过一个特异于靶细胞抗原的抗原结合模块可能增强靶细胞抗原的内在化,由此降低其利用度。

[0491] 然而,在许多其它情况中,会有利的是具有包含两个或更多个特异于靶细胞抗原的抗原结合模块(诸如Fab分子)的抗体(见图6B,6C,6E,6F,6I,6J,6M或6N中所示例子),从而例如优化对靶部位的靶向或允许靶细胞抗原的交联。

[0492] 因而,在特定的实施方案中,抗体进一步包含特异性结合第一抗原的第三Fab分子。第一抗原优选是靶细胞抗原。在一个实施方案中,第三Fab分子是常规Fab分子。在一个实施方案中,第三Fab分子与第一Fab分子相同(即第一和第三Fab分子包含相同的重和轻链氨基酸序列且具有相同的域布局(即常规或交换))。在一个特定的实施方案中,第二Fab分子特异性结合活化性T细胞抗原,特别是CD3,且第一和第三Fab分子特异性结合靶细胞抗原。

[0493] 在备选实施方案中,抗体进一步包含特异性结合第二抗原的第三Fab分子。在这些实施方案中,第二抗原优选是靶细胞抗原。在一个此类实施方案中,第三Fab分子是交换Fab分子(其中Fab重和轻链的可变域VH和VL或恒定域CL和CH1彼此交换/替换的Fab分子)。在一个此类实施方案中,第三Fab分子与第二Fab分子相同(即第二和第三Fab分子包含相同的重和轻链氨基酸序列且具有相同的域布局(即常规或交换))。在一个此类实施方案中,第一Fab分子特异性结合活化性T细胞抗原,特别是CD3,且第二和第三Fab分子特异性结合靶细胞抗原。

[0494] 在一个实施方案中,第三Fab分子在Fab重链的C端融合至Fc域的第一或第二亚基的N端。

[0495] 在一个具体的实施方案中,第二和第三Fab分子各自在Fab重链的C端融合至Fc域的亚基之一的N端,且第一Fab分子在Fab重链的C端融合至第二Fab分子的Fab重链的N端。在一个具体的此类实施方案中,抗体基本上由以下组成:第一,第二和第三Fab分子,由第一亚基和第二亚基构成的Fc域,和任选的一个或多个肽接头,其中第一Fab分子在Fab重链的C端融合至第二Fab分子的Fab重链的N端,且第二Fab分子在Fab重链的C端融合至Fc域的第一亚基的N端,且其中第三Fab分子在Fab重链的C端融合至Fc域的第二亚基的N端。此类构造示意性描绘于图6B和6E(特定的实施方案,其中第三Fab分子是常规Fab分子且优选与第一Fab分

子相同),和图6I和6M(备选的实施方案,其中第三Fab分子是交换Fab分子且优选与第二Fab分子相同)。第二和第三Fab分子可以直接或经由肽接头融合至Fc域。在一个具体的实施方案中,第二和第三Fab分子各自经由免疫球蛋白铰链区融合至Fc域。在一个特定的实施方案中,免疫球蛋白铰链区是人IgG₁铰链区,特别是Fc域是IgG₁Fc域的情况。任选地,第一Fab分子的Fab轻链和第二Fab分子的Fab轻链可以另外彼此融合。

[0496] 在另一个实施方案中,第一和第三Fab分子各自在Fab重链的C端融合至Fc域的亚基之一的N端,且第二Fab分子在Fab重链的C端融合至第一Fab分子的Fab重链的N端。在一个具体的此类实施方案中,抗体基本上由以下组成:第一,第二和第三Fab分子,由第一亚基和第二亚基构成的Fc域,和任选的一个或多个肽接头,其中第二Fab分子在Fab重链的C端融合至第一Fab分子的Fab重链的N端,且第一Fab分子在Fab重链的C端融合至Fc域的第一亚基的N端,且其中第三Fab分子在Fab重链的C端融合至Fc域的第二亚基的N端。此类构造示意性描绘于图6C和6F(特定的实施方案,其中第三Fab分子是常规Fab分子且优选与第一Fab分子相同)和图6J和6N(备选的实施方案,其中第三Fab分子是交换Fab分子且优选与第二Fab分子相同)。第一和第三Fab分子可以直接或经由肽接头融合至Fc域。在一个特定的实施方案中,第一和第三Fab分子各自经由免疫球蛋白铰链区融合至Fc域。在一个具体的实施方案中,免疫球蛋白铰链区是人IgG₁铰链区,特别是Fc域是IgG₁Fc域的情况。任选地,第一Fab分子的Fab轻链和第二Fab分子的Fab轻链可以另外彼此融合。

[0497] 在其中一个Fab分子在Fab重链的C端经由免疫球蛋白铰链区融合至Fc域的每个亚基的N端的抗体的构造中,所述两个Fab分子,所述铰链区和所述Fc域基本上形成免疫球蛋白分子。在一个具体的实施方案中,免疫球蛋白分子是IgG类免疫球蛋白。在一个甚至更具体的实施方案中,免疫球蛋白是IgG₁亚类免疫球蛋白。在另一个实施方案中,免疫球蛋白是IgG₄亚类免疫球蛋白。在又一个具体的实施方案中,免疫球蛋白是人免疫球蛋白。在其它实施方案中,免疫球蛋白是嵌合免疫球蛋白或人源化免疫球蛋白。

[0498] 在一些抗体中,第一Fab分子的Fab轻链和第二Fab分子的Fab轻链彼此融合,任选地经由肽接头。根据第一和第二Fab分子的构造,第一Fab分子的Fab轻链可在其C端融合至第二Fab分子的Fab轻链的N端,或者第二Fab分子的Fab轻链可在其C端融合至第一Fab分子的Fab轻链的N端。第一和第二Fab分子的Fab轻链的融合进一步降低不匹配的Fab重链和轻链的错配,并且还降低表达一些抗体需要的质粒数。

[0499] 在某些实施方案中,抗体包含其中的第二Fab分子的Fab轻链可变区与第二Fab分子的Fab重链恒定区共享羧基末端肽键(即第二Fab分子包含交换Fab重链,其中重链可变区用轻链可变区替换),第二Fab分子的Fab重链恒定区继而与Fc域亚基共享羧基末端肽键的多肽(VL₍₂₎-CH1₍₂₎-CH2-CH3(-CH4)),和其中的第一Fab分子的Fab重链与Fc域亚基共享羧基末端肽键的多肽(VH₍₁₎-CH1₍₁₎-CH2-CH3(-CH4))。在一些实施方案中,抗体进一步包含其中的第二Fab分子的Fab重链可变区与第二Fab分子的Fab轻链恒定区共享羧基末端肽键的多肽(VH₍₂₎-CL₍₂₎)和第一Fab分子的Fab轻链多肽(VL₍₁₎-CL₍₁₎)。在某些实施方案中,所述多肽共价连接,例如通过二硫键。

[0500] 在某些实施方案中,抗体包含其中的第二Fab分子的Fab重链可变区与第二Fab分子的Fab轻链恒定区共享羧基末端肽键(即第二Fab分子包含交换Fab重链,其中重链恒定区用轻链恒定区替换),第二Fab分子的Fab轻链恒定区继而与Fc域亚基共享羧基末端肽键的

多肽 (VH₍₂₎-CL₍₂₎-CH2-CH3 (-CH4)), 和其中的第一Fab分子的Fab重链与Fc域亚基共享羧基末端肽键的多肽 (VH₍₁₎-CH1₍₁₎-CH2-CH3 (-CH4))。在一些实施方案中, 抗体进一步包含其中的第二Fab分子的Fab轻链可变区与第二Fab分子的Fab重链恒定区共享羧基末端肽键的多肽 (VL₍₂₎-CH1₍₂₎) 和第一Fab分子的Fab轻链多肽 (VL₍₁₎-CL₍₁₎)。在某些实施方案中, 所述多肽共价连接, 例如通过二硫键。

[0501] 在一些实施方案中, 抗体包含其中的第二Fab分子的Fab轻链可变区与第二Fab分子的Fab重链恒定区共享羧基末端肽键 (即第二Fab分子包含交换Fab重链, 其中重链可变区用轻链可变区替换), 第二Fab分子的Fab重链恒定区继而与第一Fab分子的Fab重链共享羧基末端肽键, 第一Fab分子的Fab重链继而与Fc域亚基共享羧基末端肽键的多肽 (VL₍₂₎-CH1₍₂₎-VH₍₁₎-CH1₍₁₎-CH2-CH3 (-CH4))。在其它实施方案中, 抗体包含其中的第一Fab分子的Fab重链与第二Fab分子的Fab轻链可变区共享羧基末端肽键, 第二Fab分子的Fab轻链可变区继而与第二Fab分子的Fab重链恒定区共享羧基末端肽键 (即第二Fab分子包含交换Fab重链, 其中重链可变区用轻链可变区替换), 第二Fab分子的Fab重链恒定区继而与Fc域亚基共享羧基末端肽键的多肽 (VH₍₁₎-CH1₍₁₎-VL₍₂₎-CH1₍₂₎-CH2-CH3 (-CH4))。

[0502] 在这些中的一些实施方案中, 抗体进一步包含第二Fab分子的交换Fab轻链多肽, 其中第二Fab分子的Fab重链可变区与第二Fab分子的Fab轻链恒定区共享羧基末端肽键 (VH₍₂₎-CL₍₂₎), 和第一Fab分子的Fab轻链多肽 (VL₍₁₎-CL₍₁₎)。在这些中的其它实施方案中, 在适当时, 抗体进一步包含其中的第二Fab分子的Fab重链可变区与第二Fab分子的Fab轻链恒定区共享羧基末端肽键, 第二Fab分子的Fab轻链恒定区继而与第一Fab分子的Fab轻链多肽共享羧基末端肽键的多肽 (VH₍₂₎-CL₍₂₎-VL₍₁₎-CL₍₁₎), 或其中的第一Fab分子的Fab轻链多肽与第二Fab分子的Fab重链可变区共享羧基末端肽键, 第二Fab分子的Fab重链可变区继而与第二Fab分子的Fab轻链恒定区共享羧基末端肽键的多肽 (VL₍₁₎-CL₍₁₎-VH₍₂₎-CL₍₂₎)。

[0503] 依照这些实施方案的抗体可以进一步包含 (i) Fc域亚基多肽 (CH2-CH3 (-CH4)), 或 (ii) 其中的第三Fab分子的Fab重链与Fc域亚基共享羧基末端肽键的多肽 (VH₍₃₎-CH1₍₃₎-CH2-CH3 (-CH4)) 和第三Fab分子的Fab轻链多肽 (VL₍₃₎-CL₍₃₎)。在某些实施方案中, 所述多肽共价连接, 例如通过二硫键。

[0504] 在某些实施方案中, 抗体包含其中的第二Fab分子的Fab重链可变区与第二Fab分子的Fab轻链恒定区共享羧基末端肽键 (即第二Fab分子包含交换Fab重链, 其中重链恒定区用轻链恒定区替换), 第二Fab分子的Fab轻链恒定区继而与第一Fab分子的Fab重链共享羧基末端肽键, 第一Fab分子的Fab重链继而与Fc域亚基共享羧基末端肽键的多肽 (VH₍₂₎-CL₍₂₎-VH₍₁₎-CH1₍₁₎-CH2-CH3 (-CH4))。在其它实施方案中, 抗体包含其中的第一Fab分子的Fab重链与第二Fab分子的Fab重链可变区共享羧基末端肽键, 第二Fab分子的Fab重链可变区继而与第二Fab分子的Fab轻链恒定区共享羧基末端肽键 (即第二Fab分子包含交换Fab重链, 其中重链恒定区用轻链恒定区替换), 第二Fab分子的Fab轻链恒定区继而与Fc域亚基共享羧基末端肽键的多肽 (VH₍₁₎-CH1₍₁₎-VH₍₂₎-CL₍₂₎-CH2-CH3 (-CH4))。

[0505] 在这些中的一些实施方案中, 抗体进一步包含第二Fab分子的交换Fab轻链多肽, 其中第二Fab分子的Fab轻链可变区与第二Fab分子的Fab重链恒定区共享羧基末端肽键 (VL₍₂₎-CH1₍₂₎), 和第一Fab分子的Fab轻链多肽 (VL₍₁₎-CL₍₁₎)。在这些中的其它实施方案中, 在适当时, 抗体进一步包含其中的第二Fab分子的Fab轻链可变区与第二Fab分子的Fab重链

恒定区共享羧基末端肽键,第二Fab分子的Fab重链恒定区继而与第一Fab分子的Fab轻链多肽共享羧基末端肽键的多肽(VL₍₂₎-CH1₍₂₎-VL₍₁₎-CL₍₁₎),或其中的第一Fab分子的Fab轻链多肽与第二Fab分子的Fab重链可变区共享羧基末端肽键,第二Fab分子的Fab重链可变区继而与第二Fab分子的Fab轻链恒定区共享羧基末端肽键的多肽(VL₍₁₎-CL₍₁₎-VH₍₂₎-CL₍₂₎)。

[0506] 依照这些实施方案的抗体可以进一步包含(i)Fc域亚基多肽(CH2-CH3(-CH4)),或(ii)其中的第三Fab分子的Fab重链与Fc域亚基共享羧基末端肽键的多肽(VH₍₃₎-CH1₍₃₎-CH2-CH3(-CH4))和第三Fab分子的Fab轻链多肽(VL₍₃₎-CL₍₃₎)。在某些实施方案中,所述多肽共价连接,例如通过二硫键。

[0507] 在一些实施方案中,第一Fab分子在Fab重链的C端融合至第二Fab分子的Fab重链的N端。在某些此类实施方案中,抗体不包含Fc域。在某些实施方案中,抗体基本上由以下组成:第一和第二Fab分子,和任选的一个或多个肽接头,其中第一Fab分子在Fab重链的C端融合至第二Fab分子的Fab重链的N端。此类构造示意性描绘于图6O和6S。

[0508] 在其它实施方案中,第二Fab分子在Fab重链的C端融合至第一Fab分子的Fab重链的N端。在某些此类实施方案中,抗体不包含Fc域。在某些实施方案中,抗体基本上由以下组成:第一和第二Fab分子,和任选的一个或多个肽接头,其中第二Fab分子在Fab重链的C端融合至第一Fab分子的Fab重链的N端。此类构造示意性描绘于图6P和6T。

[0509] 在一些实施方案中,第一Fab分子在Fab重链的C端融合至第二Fab分子的Fab重链的N端,且抗体进一步包含第三Fab分子,其中所述第三Fab分子在Fab重链的C端融合至第一Fab分子的Fab重链的N端。在特定的此类实施方案中,所述第三Fab分子是常规Fab分子。在其它此类实施方案中,所述第三Fab分子是本文所述交换Fab分子,即其中Fab重和轻链的可变域VH和VL或恒定域CL和CH1彼此交换/替换的Fab分子。在某些此类实施方案中,抗体基本上由以下组成:第一,第二和第三Fab分子,和任选的一个或多个肽接头,其中第一Fab分子在Fab重链的C端融合至第二Fab分子的Fab重链的N端,且第三Fab分子在Fab重链的C端融合至第一Fab分子的Fab重链的N端。此类构造示意性描绘于图6Q和6U(具体的实施方案,其中第三Fab分子是常规Fab分子且优选与第一Fab分子相同)。

[0510] 在一些实施方案中,第一Fab分子在Fab重链的C端融合至第二Fab分子的Fab重链的N端,且抗体进一步包含第三Fab分子,其中所述第三Fab分子在Fab重链的N端融合至第二Fab分子的Fab重链的C端。在特定的此类实施方案中,所述第三Fab分子是本文所述交换Fab分子,即其中Fab重和轻链的可变域VH和VL或恒定域CH1和CL彼此交换/替换的Fab分子。在其它此类实施方案中,所述第三Fab分子是常规Fab分子。在某些此类实施方案中,抗体基本上由以下组成:第一,第二和第三Fab分子,和任选的一个或多个肽接头,其中第一Fab分子在Fab重链的C端融合至第二Fab分子的Fab重链的N端,且第三Fab分子在Fab重链的N端融合至第二Fab分子的Fab重链的C端。此类构造示意性描绘于图6W和6Y(具体的实施方案,其中第三Fab分子是交换Fab分子且优选与第二Fab分子相同)。

[0511] 在一些实施方案中,第二Fab分子在Fab重链的C端融合至第一Fab分子的Fab重链的N端,且抗体进一步包含第三Fab分子,其中所述第三Fab分子在Fab重链的N端融合至第一Fab分子的Fab重链的C端。在特定的此类实施方案中,所述第三Fab分子是常规Fab分子。在其它此类实施方案中,所述第三Fab分子是本文所述交换Fab分子,即其中Fab重和轻链的可变域VH和VL或恒定域CH1和CL彼此交换/替换的Fab分子。在某些此类实施方案中,抗体基本

上由以下组成：第一，第二和第三Fab分子，和任选的一个或多个肽接头，其中第二Fab分子在Fab重链的C端融合至第一Fab分子的Fab重链的N端，且第三Fab分子在Fab重链的N端融合至第一Fab分子的Fab重链的C端。此类构造示意性描绘于图6R和6V（具体的实施方案，其中第三Fab分子是常规Fab分子且优选与第一Fab分子相同）。

[0512] 在一些实施方案中，第二Fab分子在Fab重链的C端融合至第一Fab分子的Fab重链的N端，且抗体进一步包含第三Fab分子，其中所述第三Fab分子在Fab重链的C端融合至第二Fab分子的Fab重链的N端。在特定的此类实施方案中，所述第三Fab分子是本文所述交换Fab分子，即其中Fab重和轻链的可变域VH和VL或恒定域CH1和CL彼此交换/替换的Fab分子。在其它此类实施方案中，所述第三Fab分子是常规Fab分子。在某些此类实施方案中，抗体基本上由以下组成：第一，第二和第三Fab分子，和任选的一个或多个肽接头，其中第二Fab分子在Fab重链的C端融合至第一Fab分子的Fab重链的N端，且第三Fab分子在Fab重链的C端融合至第二Fab分子的Fab重链的N端。此类构造示意性描绘于图6X和6Z（具体的实施方案，其中第三Fab分子是交换Fab分子且优选与第一Fab分子相同）。

[0513] 在某些实施方案中，抗体包含其中的第一Fab分子的Fab重链与第二Fab分子的Fab轻链可变区共享羧基末端肽键，第二Fab分子的Fab轻链可变区继而与第二Fab分子的Fab重链恒定区共享羧基末端肽键（即第二Fab分子包含交换Fab重链，其中重链可变区用轻链可变区替换）的多肽（ $VH_{(1)}-CH1_{(1)}-VL_{(2)}-CH1_{(2)}$ ）。在一些实施方案中，抗体进一步包含其中的第二Fab分子的Fab重链可变区与第二Fab分子的Fab轻链恒定区共享羧基末端肽键的多肽（ $VH_{(2)}-CL_{(2)}$ ）和第一Fab分子的Fab轻链多肽（ $VL_{(1)}-CL_{(1)}$ ）。

[0514] 在某些实施方案中，抗体包含其中的第二Fab分子的Fab轻链可变区与第二Fab分子的Fab重链恒定区共享羧基末端肽键（即第二Fab分子包含交换Fab重链，其中重链可变区用轻链可变区替换），第二Fab分子的Fab重链恒定区继而与第一Fab分子的Fab重链共享羧基末端肽键的多肽（ $VL_{(2)}-CH1_{(2)}-VH_{(1)}-CH1_{(1)}$ ）。在一些实施方案中，抗体进一步包含其中的第二Fab分子的Fab重链可变区与第二Fab分子的Fab轻链恒定区共享羧基末端肽键的多肽（ $VH_{(2)}-CL_{(2)}$ ）和第一Fab分子的Fab轻链多肽（ $VL_{(1)}-CL_{(1)}$ ）。

[0515] 在某些实施方案中，抗体包含其中的第二Fab分子的Fab重链可变区与第二Fab分子的Fab轻链恒定区共享羧基末端肽键（即第二Fab分子包含交换Fab重链，其中重链恒定区用轻链恒定区替换），第二Fab分子的Fab轻链恒定区继而与第一Fab分子的Fab重链共享羧基末端肽键的多肽（ $VH_{(2)}-CL_{(2)}-VH_{(1)}-CH1_{(1)}$ ）。在一些实施方案中，抗体进一步包含其中的第二Fab分子的Fab轻链可变区与第二Fab分子的Fab重链恒定区共享羧基末端肽键的多肽（ $VL_{(2)}-CH1_{(2)}$ ）和第一Fab分子的Fab轻链多肽（ $VL_{(1)}-CL_{(1)}$ ）。

[0516] 在某些实施方案中，抗体包含其中的第三Fab分子的Fab重链与第一Fab分子的Fab重链共享羧基末端肽键，第一Fab分子的Fab重链继而与第二Fab分子的Fab轻链可变区共享羧基末端肽键，第二Fab分子的Fab轻链可变区继而与第二Fab分子的Fab重链恒定区共享羧基末端肽键（即第二Fab分子包含交换Fab重链，其中重链可变区用轻链可变区替换）的多肽（ $VH_{(3)}-CH1_{(3)}-VH_{(1)}-CH1_{(1)}-VL_{(2)}-CH1_{(2)}$ ）。在一些实施方案中，抗体进一步包含其中的第二Fab分子的Fab重链可变区与第二Fab分子的Fab轻链恒定区共享羧基末端肽键的多肽（ $VH_{(2)}-CL_{(2)}$ ）和第一Fab分子的Fab轻链多肽（ $VL_{(1)}-CL_{(1)}$ ）。在一些实施方案中，抗体进一步包含第三Fab分子的Fab轻链多肽（ $VL_{(3)}-CL_{(3)}$ ）。

[0517] 在某些实施方案中,抗体包含其中的第三Fab分子的Fab重链与第一Fab分子的Fab重链共享羧基末端肽键,第一Fab分子的Fab重链继而与第二Fab分子的Fab重链可变区共享羧基末端肽键,第二Fab分子的Fab重链可变区继而与第二Fab分子的Fab轻链恒定区共享羧基末端肽键(即第二Fab分子包含交换Fab重链,其中重链恒定区用轻链恒定区替换)的多肽(VH₍₃₎-CH1₍₃₎-VH₍₁₎-CH1₍₁₎-VH₍₂₎-CL₍₂₎)。在一些实施方案中,抗体进一步包含其中的第二Fab分子的Fab轻链可变区与第二Fab分子的Fab重链恒定区共享羧基末端肽键的多肽(VL₍₂₎-CH1₍₂₎)和第一Fab分子的Fab轻链多肽(VL₍₁₎-CL₍₁₎)。在一些实施方案中,抗体进一步包含第三Fab分子的Fab轻链多肽(VL₍₃₎-CL₍₃₎)。

[0518] 在某些实施方案中,抗体包含其中的第二Fab分子的Fab轻链可变区与第二Fab分子的Fab重链恒定区共享羧基末端肽键(即第二Fab分子包含交换Fab重链,其中重链可变区用轻链可变区替换),第二Fab分子的Fab重链恒定区继而与第一Fab分子的Fab重链共享羧基末端肽键,第一Fab分子的Fab重链继而与第三Fab分子的Fab重链共享羧基末端肽键的多肽(VL₍₂₎-CH1₍₂₎-VH₍₁₎-CH1₍₁₎-VH₍₃₎-CH1₍₃₎)。在一些实施方案中,抗体进一步包含其中的第二Fab分子的Fab重链可变区与第二Fab分子的Fab轻链恒定区共享羧基末端肽键的多肽(VH₍₂₎-CL₍₂₎)和第一Fab分子的Fab轻链多肽(VL₍₁₎-CL₍₁₎)。在一些实施方案中,抗体进一步包含第三Fab分子的Fab轻链多肽(VL₍₃₎-CL₍₃₎)。

[0519] 在某些实施方案中,抗体包含其中的第二Fab分子的Fab重链可变区与第二Fab分子的Fab轻链恒定区共享羧基末端肽键(即第二Fab分子包含交换Fab重链,其中重链恒定区用轻链恒定区替换),第二Fab分子的Fab轻链恒定区继而与第一Fab分子的Fab重链共享羧基末端肽键,第一Fab分子的Fab重链继而与第三Fab分子的Fab重链共享羧基末端肽键的多肽(VH₍₂₎-CL₍₂₎-VH₍₁₎-CH1₍₁₎-VH₍₃₎-CH1₍₃₎)。在一些实施方案中,抗体进一步包含其中的第二Fab分子的Fab轻链可变区与第二Fab分子的Fab重链恒定区共享羧基末端肽键的多肽(VL₍₂₎-CH1₍₂₎)和第一Fab分子的Fab轻链多肽(VL₍₁₎-CL₍₁₎)。在一些实施方案中,抗体进一步包含第三Fab分子的Fab轻链多肽(VL₍₃₎-CL₍₃₎)。

[0520] 在某些实施方案中,抗体包含其中的第一Fab分子的Fab重链与第二Fab分子的Fab轻链可变区共享羧基末端肽键,第二Fab分子的Fab轻链可变区继而与第二Fab分子的Fab重链恒定区共享羧基末端肽键(即第二Fab分子包含交换Fab重链,其中重链可变区用轻链可变区替换),第二Fab分子的Fab重链恒定区继而与第三Fab分子的Fab轻链可变区共享羧基末端肽键,第三Fab分子的Fab轻链可变区继而与第三Fab分子的Fab重链恒定区共享羧基末端肽键(即第三Fab分子包含交换Fab重链,其中重链可变区用轻链可变区替换)的多肽(VH₍₁₎-CH1₍₁₎-VL₍₂₎-CH1₍₂₎-VL₍₃₎-CH1₍₃₎)。在一些实施方案中,抗体进一步包含其中的第二Fab分子的Fab重链可变区与第二Fab分子的Fab轻链恒定区共享羧基末端肽键的多肽(VH₍₂₎-CL₍₂₎)和第一Fab分子的Fab轻链多肽(VL₍₁₎-CL₍₁₎)。在一些实施方案中,抗体进一步包含其中的第三Fab分子的Fab重链可变区与第三Fab分子的Fab轻链恒定区共享羧基末端肽键的多肽(VH₍₃₎-CL₍₃₎)。

[0521] 在某些实施方案中,抗体包含其中的第一Fab分子的Fab重链与第二Fab分子的Fab重链可变区共享羧基末端肽键,第二Fab分子的Fab重链可变区继而与第二Fab分子的Fab轻链恒定区共享羧基末端肽键(即第二Fab分子包含交换Fab重链,其中重链恒定区用轻链恒定区替换),第二Fab分子的Fab轻链恒定区继而与第三Fab分子的Fab重链可变区共享羧基

末端肽键,第三Fab分子的Fab重链可变区继而与第三Fab分子的Fab轻链恒定区共享羧基末端肽键(即第三Fab分子包含交换Fab重链,其中重链恒定区用轻链恒定区替换)的多肽($VH_{(1)}-CH1_{(1)}-VH_{(2)}-CL_{(2)}-VH_{(3)}-CL_{(3)}$)。在一些实施方案中,抗体进一步包含其中的第二Fab分子的Fab轻链可变区与第二Fab分子的Fab重链恒定区共享羧基末端肽键的多肽($VL_{(2)}-CH1_{(2)}$)和第一Fab分子的Fab轻链多肽($VL_{(1)}-CL_{(1)}$)。在一些实施方案中,抗体进一步包含其中的第三Fab分子的Fab轻链可变区与第三Fab分子的Fab重链恒定区共享羧基末端肽键的多肽($VL_{(3)}-CH1_{(3)}$)。

[0522] 在某些实施方案中,抗体包含其中的第三Fab分子的Fab轻链可变区与第三Fab分子的Fab重链恒定区共享羧基末端肽键(即第三Fab分子包含交换Fab重链,其中重链可变区用轻链可变区替换),第三Fab分子的Fab重链恒定区继而与第二Fab分子的Fab轻链可变区共享羧基末端肽键,第二Fab分子的Fab轻链可变区继而与第二Fab分子的Fab重链恒定区共享羧基末端肽键(即第二Fab分子包含交换Fab重链,其中重链可变区用轻链可变区替换),第二Fab分子的Fab重链恒定区继而与第一Fab分子的Fab重链共享羧基末端肽键的多肽($VL_{(3)}-CH1_{(3)}-VL_{(2)}-CH1_{(2)}-VH_{(1)}-CH1_{(1)}$)。在一些实施方案中,抗体进一步包含其中的第二Fab分子的Fab重链可变区与第二Fab分子的Fab轻链恒定区共享羧基末端肽键的多肽($VH_{(2)}-CL_{(2)}$)和第一Fab分子的Fab轻链多肽($VL_{(1)}-CL_{(1)}$)。在一些实施方案中,抗体进一步包含其中的第三Fab分子的Fab重链可变区与第三Fab分子的Fab轻链恒定区共享羧基末端肽键的多肽($VH_{(3)}-CL_{(3)}$)。

[0523] 在某些实施方案中,抗体包含其中的第三Fab分子的Fab重链可变区与第三Fab分子的Fab轻链恒定区共享羧基末端肽键(即第三Fab分子包含交换Fab重链,其中重链恒定区用轻链恒定区替换),第三Fab分子的Fab轻链恒定区继而与第二Fab分子的Fab重链可变区共享羧基末端肽键,第二Fab分子的Fab重链可变区继而与第二Fab分子的Fab轻链恒定区共享羧基末端肽键(即第二Fab分子包含交换Fab重链,其中重链恒定区用轻链恒定区替换),第二Fab分子的Fab轻链恒定区继而与第一Fab分子的Fab重链共享羧基末端肽键的多肽($VH_{(3)}-CL_{(3)}-VH_{(2)}-CL_{(2)}-VH_{(1)}-CH1_{(1)}$)。在一些实施方案中,抗体进一步包含其中的第二Fab分子的Fab轻链可变区与第二Fab分子的Fab重链恒定区共享羧基末端肽键的多肽($VL_{(2)}-CH1_{(2)}$)和第一Fab分子的Fab轻链多肽($VL_{(1)}-CL_{(1)}$)。在一些实施方案中,抗体进一步包含其中的第三Fab分子的Fab轻链可变区与第三Fab分子的Fab重链恒定区共享羧基末端肽键的多肽($VL_{(3)}-CH1_{(3)}$)。

[0524] 依照任何上述实施方案,抗体的各组分(例如Fab分子,Fc域)可直接地或经由本文中描述或本领域已知的各种接头(特别是包含一个或多个氨基酸,通常约2-20个氨基酸的肽接头)融合。合适的,非免疫原性的肽接头包括例如(G_4S)_n, (SG_4)_n, (G_4S)_n或 $G_4(SG_4)_n$ 肽接头,其中n一般是1至10,通常是2至4的整数。

[0525] Fc域

[0526] 治疗剂中包含的抗体,例如双特异性抗体或免疫缀合物可包含Fc域,其由一对包含抗体分子重链域的多肽链组成。例如,免疫球蛋白G(IgG)分子的Fc域是二聚体,其每个亚基包含CH2和CH3 IgG重链恒定域。Fc域的两个亚基能够彼此稳定联合。

[0527] 在一个实施方案中,Fc域是IgG Fc域。在一个具体的实施方案中,Fc域是IgG₁ Fc域。在另一个实施方案中,Fc域是IgG₄ Fc域。在一个更加具体的实施方案中,Fc域是包含位

置S228 (Kabat编号方式)处的氨基酸替代,特别是氨基酸替代S228P的IgG₄ Fc域。此氨基酸替代降低IgG₄抗体的体内Fab臂交换(参见Stubenrauch等,Drug Metabolism and Disposition 38,84-91 (2010))。在又一个具体的实施方案中,Fc域是人的。人IgG₁ Fc区的一种例示性序列在SEQ ID NO:30中给出。

[0528] (i) 促进异二聚化的Fc域修饰

[0529] 治疗剂中包含的抗体,特别是双特异性抗体或免疫缀合物可包含不同组分(例如抗原结合域,细胞因子),其融合至Fc域的两个亚基之一或另一个,如此Fc域的两个亚基通常包含在两条不相同的多肽链中。这些多肽的重组共表达和随后二聚化导致两种多肽的数种可能组合。为了改进重组生产中此类抗体的产量和纯度,如此在抗体的Fc域中引入促进期望多肽联合的修饰会是有利的。

[0530] 因而,在具体的实施方案中,Fc域包含促进Fc域的第一和第二亚基联合的修饰。人IgG Fc域的两个亚基之间最广泛的蛋白质-蛋白质相互作用的位点在Fc域的CH3域中。如此,在一个实施方案中,所述修饰在Fc域的CH3域中。

[0531] 有数种办法来修饰Fc域的CH3域以加强异二聚化,它们详细记载于例如WO 96/27011,WO 98/050431,EP 1870459,WO 2007/110205,WO 2007/147901,WO 2009/089004,WO 2010/129304,WO 2011/90754,WO 2011/143545,WO 2012058768,WO 2013157954,WO 2013096291。典型地,在所有此类办法中,Fc域的第一亚基的CH3域和Fc域的第二亚基的CH3域二者以互补方式进行工程化改造使得每个CH3域(或包含它的重链)不再能与其自身同二聚化但被迫与互补工程化改造的其它CH3域异二聚化(使得第一和第二CH3域异二聚化且两个第一CH3域或两个第二CH3域之间不形成同二聚体)。涵盖这些用于改善重链异二聚化的不同办法作为不同办法,与减少轻链错配和Bence Jones型副产物的重-轻链修饰(例如Fab臂中的可变或恒定区交换/替换或在CH1/CL界面中引入具有相反电荷的带电荷的氨基酸的替代)组合。

[0532] 在一个特定的实施方案中,所述促进Fc域的第一亚基和第二亚基联合的修饰是所谓的“节-入-穴”修饰,其包含在Fc域的两个亚基之一中的“节”修饰和在Fc域的两个亚基之另一中的“穴”修饰。

[0533] 节-入-穴技术记载于例如US 5,731,168;US 7,695,936;Ridgway等,Prot Eng 9, 617-621 (1996) 和Carter, J Immunol Meth 248,7-15 (2001)。一般地,该方法牵涉在第一多肽的界面处引入隆起(“节”)并在第二多肽的界面中引入相应的空腔(“穴”),使得隆起可以置于空腔中从而促进异二聚体形成并阻碍同二聚体形成。通过将来自第一多肽界面的小氨基酸侧链用更大的侧链(例如酪氨酸或色氨酸)替换来构建隆起。在第二多肽的界面中创建具有与隆起相同或相似大小的互补性空腔,其通过将大氨基酸侧链用更小的氨基酸侧链(例如丙氨酸或苏氨酸)替换进行。

[0534] 因而,在一个具体的实施方案中,在Fc域的第一亚基的CH3域中,一个氨基酸残基用具有更大侧链体积的氨基酸残基替换,由此在第一亚基的CH3域内生成隆起,其可安置于第二亚基的CH3域内的空腔中,而且在Fc域的第二亚基的CH3域中,一个氨基酸残基用具有更小侧链体积的氨基酸残基替换,由此在第二亚基的CH3域内生成空腔,其中可安置第一亚基的CH3域内的隆起。

[0535] 优选地,所述具有更大侧链体积的氨基酸残基选自下组:精氨酸(R),苯丙氨酸

(F), 酪氨酸(Y), 和色氨酸(W)。

[0536] 优选地, 所述具有更小侧链体积的氨基酸残基选自下组: 丙氨酸(A), 丝氨酸(S), 苏氨酸(T), 和缬氨酸(V)。

[0537] 可以通过改变编码多肽的核酸, 例如通过位点特异性诱变或通过肽合成来生成隆起和空腔。

[0538] 在一个特定的实施方案中, 在Fc域第一亚基的CH3域(“节”亚基)中, 第366位的苏氨酸残基用色氨酸残基替换(T366W), 而在Fc域第二亚基的CH3域(“穴”亚基)中, 第407位的酪氨酸残基用缬氨酸残基替换(Y407V)。在一个实施方案中, 在Fc域第二亚基中, 另外, 第366位的苏氨酸残基用丝氨酸残基替换(T366S)且第368位的亮氨酸残基用丙氨酸残基替换(L368A)(编号方式依照Kabat EU索引)。

[0539] 在还有又一个实施方案中, 在Fc域的第一亚基中, 另外, 第354位的丝氨酸残基用半胱氨酸残基替换(S354C)或第356位的谷氨酸残基用半胱氨酸残基替换(E356C), 而在Fc域的第二亚基中, 另外, 第349位的酪氨酸残基用半胱氨酸残基替换(Y349C)(编号方式依照Kabat EU索引)。这两个半胱氨酸残基的引入导致在Fc域的两个亚基之间形成二硫桥, 进一步稳定了二聚体(Carter, J Immunol Methods 248, 7-15 (2001))。

[0540] 在一个具体的实施方案中, Fc域的第一亚基包含氨基酸替代S354C和T366W, 且Fc域的第二亚基包含氨基酸替代Y349C, T366S, L368A和Y407V(编号方式依照Kabat EU索引)。

[0541] 在一个具体的实施方案中, 将本文中描述的免疫缀合物中的突变体IL-2多肽或本文中描述的双特异性抗体中的CD3抗原结合模块融合至Fc域的第一亚基(其包含“节”修饰)。不希望受理论束缚, IL-2多肽或CD3抗原结合模块与Fc域的含节的亚基的融合分别会(进一步)使包含两个IL-2多肽的免疫缀合物或包含两个CD3抗原结合模块的双特异性抗体的生成最小化(两条含节的多肽的空间碰撞)。

[0542] 涵盖修饰CH3以增强异二聚化的其它技术作为依照本发明的备选, 它们记载于例如WO 96/27011, WO 98/050431, EP 1870459, WO 2007/110205, WO 2007/147901, WO 2009/089004, WO 2010/129304, WO 2011/90754, WO 2011/143545, WO 2012/058768, WO 2013/157954, WO 2013/096291。

[0543] 在一个实施方案中, 备选地使用EP 1870459A1中记载的异二聚化办法。这种办法基于在Fc域的两个亚基之间的CH3/CH3域界面中的特定氨基酸位置引入具有相反电荷的带电荷的氨基酸。一个优选的实施方案是(Fc域的)两个CH3域之一中的氨基酸突变R409D; K370E和Fc域的CH3域之另一中的氨基酸突变D399K; E357K(编号方式依照Kabat EU索引)。

[0544] 在另一个实施方案中, 抗体包含Fc域的第一亚基的CH3域中的氨基酸突变T366W和Fc域的第二亚基的CH3域中的氨基酸突变T366S, L368A, Y407V, 和另外的Fc域的第一亚基的CH3域中的氨基酸突变R409D; K370E和Fc域的第二亚基的CH3域中的氨基酸突变D399K; E357K(编号方式依照Kabat EU索引)。

[0545] 在另一个实施方案中, 抗体包含Fc域的第一亚基的CH3域中的氨基酸突变S354C, T366W和Fc域的第二亚基的CH3域中的氨基酸突变Y349C, T366S, L368A, Y407V, 或抗体包含Fc域的第一亚基的CH3域中的氨基酸突变Y349C, T366W和Fc域的第二亚基的CH3域中的氨基酸突变S354C, T366S, L368A, Y407V和另外的Fc域的第一亚基的CH3域中的氨基酸突变R409D; K370E和Fc域的第二亚基的CH3域中的氨基酸突变D399K; E357K(所有编号方式依照

Kabat EU索引)。

[0546] 在一个实施方案中,备选地使用WO 2013/157953中记载的异二聚化办法。在一个实施方案中,第一CH3域包含氨基酸突变T366K且第二CH3域包含氨基酸突变L351D(编号方式依照Kabat EU索引)。在又一个实施方案中,第一CH3域进一步包含氨基酸突变L351K。在又一个实施方案中,第二CH3域进一步包含选自Y349E,Y349D和L368E的氨基酸突变(优选L368E)(编号方式依照Kabat EU索引)。

[0547] 在一个实施方案中,备选地使用WO 2012/058768中记载的异二聚化办法。在一个实施方案中,第一CH3域包含氨基酸突变L351Y,Y407A且第二CH3域包含氨基酸突变T366A,K409F。在又一个实施方案中,第二CH3域进一步包含位置T411,D399,S400,F405,N390,或K392处的氨基酸突变,例如选自a) T411N,T411R,T411Q,T411K,T411D,T411E或T411W,b) D399R,D399W,D399Y或D399K,c) S400E,S400D,S400R,或S400K,d) F405I,F405M,F405T,F405S,F405V或F405W,e) N390R,N390K或N390D,f) K392V,K392M,K392R,K392L,K392F或K392E(编号方式依照Kabat EU索引)。在又一个实施方案中,第一CH3域包含氨基酸突变L351Y,Y407A且第二CH3域包含氨基酸突变T366V,K409F。在又一个实施方案中,第一CH3域包含氨基酸突变Y407A且第二CH3域包含氨基酸突变T366A,K409F。在又一个实施方案中,第二CH3域进一步包含氨基酸突变K392E,T411E,D399R和S400R(编号方式依照Kabat EU索引)。

[0548] 在一个实施方案中,备选地使用WO 2011/143545中记载的异二聚化办法,例如进行选自下组的位置处的氨基酸修饰:368和409(编号方式依照Kabat EU索引)。

[0549] 在一个实施方案中,备选地使用WO2011/090762中记载的异二聚化办法,它也使用上文所述节-入-穴技术。在一个实施方案中,第一CH3域包含氨基酸突变T366W且第二CH3域包含氨基酸突变Y407A。在一个实施方案中,第一CH3域包含氨基酸突变T366Y且第二CH3域包含氨基酸突变Y407T(编号方式依照Kabat EU索引)。

[0550] 在一个实施方案中,抗体或它的Fc域是IgG₂亚类的且备选地使用WO 2010/129304中记载的异二聚化办法。

[0551] 在一个备选的实施方案中,促进Fc域的第一和第二亚基联合的修饰包含介导静电操纵效应(electrostatic steering effect)的修饰,例如如记载于PCT公开文本No.WO 2009/089004的。一般地,此方法涉及将在两个Fc域亚基界面处的一个或多个氨基酸残基替换为带电荷的氨基酸残基,从而在静电上不利于同二聚体形成而在静电上有利于异二聚化。在一个此类实施方案中,第一CH3域包含带负电荷的氨基酸(例如谷氨酸(E),或天冬氨酸(D))对K392或N392的氨基酸替代(优选K392D或N392D)且第二CH3域包含带正电荷的氨基酸(例如赖氨酸(K)或精氨酸(R))对D399,E356,D356,或E357的氨基酸替代(优选D399K,E356K,D356K,或E357K,更优选D399K和E356K)。在又一个实施方案中,第一CH3域进一步包含带负电荷的氨基酸(例如谷氨酸(E),或天冬氨酸(D))对K409或R409的氨基酸替代,优选K409D或R409D。在又一个实施方案中,第一CH3域进一步或二选一地包含带负电荷的氨基酸(例如谷氨酸(E),或天冬氨酸(D))对K439和/或K370的氨基酸替代(所有编号方式依照Kabat EU索引)。

[0552] 在还有又一个实施方案中,备选地使用WO 2007/147901中记载的异二聚化办法。在一个实施方案中,第一CH3域包含氨基酸突变K253E,D282K,和K322D且第二CH3域包含氨

氨基酸突变D239K, E240K, 和K292D (编号方式依照Kabat EU索引)。

[0553] 在仍有另一个实施方案中, 可以备选地使用WO 2007/110205中记载的异二聚化办法。

[0554] 在一个实施方案中, Fc域的第一亚基包含氨基酸替代K392D和K409D, 且Fc域的第二亚基包含氨基酸替代D356K和D399K (编号方式依照Kabat EU索引)。

[0555] (ii) 降低Fc受体结合和/或效应器功能的Fc域修饰

[0556] Fc域赋予抗体, 诸如双特异性抗体或免疫缀合物以有利的药动学特性, 包括长血清半衰期, 其有助于在靶组织中的较好积累和有利的组织-血液分配比。然而, 同时它可能导致不想要的抗体对表达Fc受体的细胞而非优选的携带抗原的细胞的靶向。此外, Fc受体信号传导途径的共激活可能导致细胞因子释放, 其与抗体可具有的其它免疫刺激特性和抗体的长半衰期组合, 在系统性施用后引起细胞因子受体的过度活化和严重的副作用。

[0557] 因而, 在具体的实施方案中, 治疗剂中包含的抗体, 特别是双特异性抗体或免疫缀合物的Fc域展现出与天然IgG₁ Fc域相比降低的对Fc受体的结合亲和力和/或降低的效应器功能。在一个此类实施方案中, Fc域(或包含所述Fc域的分子, 例如抗体) 展现出与天然IgG₁ Fc域(或包含天然IgG₁ Fc域的相应分子) 相比少于50%, 优选少于20%, 更优选少于10%且最优选少于5%的对Fc受体的结合亲和力, 和/或与天然IgG₁ Fc域(或包含天然IgG₁ Fc域的相应分子) 相比少于50%, 优选少于20%, 更优选少于10%且最优选少于5%的效应器功能。在一个实施方案中, Fc域(或包含所述Fc域的分子, 例如抗体) 没有实质性结合Fc受体和/或诱导效应器功能。在一个具体的实施方案中, 所述Fc受体是Fc γ 受体。在一个实施方案中, 所述Fc受体是人Fc受体。在一个实施方案中, 所述Fc受体是活化性Fc受体。在一个特定的实施方案中, 所述Fc受体是活化性人Fc γ 受体, 更具体地是人Fc γ RIIIa, Fc γ RI或Fc γ RIIa, 最具体地是人Fc γ RIIIa。在一个实施方案中, 效应器功能是选自下组的一项或多项: CDC, ADCC, ADCP, 和细胞因子分泌。在一个具体的实施方案中, 所述效应器功能是ADCC。在一个实施方案中, 所述Fc域展现出与天然IgG₁ Fc域相比基本相似的对新生儿Fc受体(FcRn)的结合亲和力。当Fc域(或包含所述Fc域的分子, 例如抗体) 展现出超过约70%, 特别是超过约80%, 更特别是超过约90%的天然IgG₁ Fc域(或包含天然IgG₁ Fc域的相应分子) 对FcRn的结合亲和力时, 实现基本相似的对FcRn的结合。

[0558] 在某些实施方案中, Fc域工程化改造为具有与非工程化Fc域相比降低的对Fc受体的结合亲和力和/或降低的效应器功能。在具体的实施方案中, Fc域包含一处或多处降低Fc域对Fc受体的结合亲和力和/或效应器功能的氨基酸突变。通常, Fc域的两个亚基的每一个中存在相同的一处或多处氨基酸突变。在一个实施方案中, 所述氨基酸突变降低Fc域对Fc受体的结合亲和力。在一个实施方案中, 所述氨基酸突变将Fc域对Fc受体的结合亲和力降低至少2倍, 至少5倍, 或至少10倍。在有超过一处降低Fc域对Fc受体的结合亲和力的氨基酸突变的实施方案中, 这些氨基酸突变的组合可以将Fc域对Fc受体的结合亲和力降低至少10倍, 至少20倍, 或甚至至少50倍。在一个实施方案中, 包含工程化Fc域的分子, 例如抗体展现出与包含非工程化Fc域的相应分子相比少于20%, 特别是少于10%, 更特别是少于5%的对Fc受体的结合亲和力。在一个具体的实施方案中, Fc受体是Fc γ 受体。在一些实施方案中, 所述Fc受体是人Fc受体。在一些实施方案中, Fc受体是活化性Fc受体。在一个特定的实施方案中, Fc受体是活化性人Fc γ 受体, 更特别是人Fc γ RIIIa, Fc γ RI或Fc γ RIIa, 最特别是人

Fc γ RIIa。优选地,对这些受体的每一种的结合是降低的。在一些实施方案中,对补体成分的结合亲和力,特别是对C1q的结合亲和力也是降低的。在一个实施方案中,对新生儿Fc受体(FcRn)的结合亲和力没有降低。当Fc域(或包含所述Fc域的分子,例如抗体)展现出非工程化形式的Fc域(或包含所述非工程化形式的Fc域的相应分子)对FcRn的结合亲和力的超过约70%时,实现基本相似的对FcRn的结合,即保留该Fc域对所述受体的结合亲和力。Fc域或包含所述Fc域的分子,例如抗体可以展现出超过约80%和甚至超过约90%的此类亲和力。在某些实施方案中,Fc域工程化改造为具有与非工程化Fc域相比降低的效应器功能。所述降低的效应器功能可包括但不限于下列一项或多项:降低的补体依赖性细胞毒性(CDC),降低的抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC),降低的抗体依赖性细胞吞噬作用(ADCP),降低的细胞因子分泌,降低的免疫复合物介导的抗原呈递细胞的抗原摄取,降低的对NK细胞的结合,降低的对巨噬细胞的结合,降低的对单核细胞的结合,降低的对多形核细胞的结合,降低的诱导凋亡的直接信号传导,降低的靶物结合的抗体的交联,降低的树突细胞成熟,或降低的T细胞引发。在一个实施方案中,所述降低的效应器功能是选自下组的一项或多项:降低的CDC,降低的ADCC,降低的ADCP,和降低的细胞因子分泌。在一个具体的实施方案中,所述降低的效应器功能是降低的ADCC。在一个实施方案中,所述降低的ADCC是小于20%的由非工程化Fc域(或包含非工程化Fc域的相应分子)诱导的ADCC。

[0559] 在一个实施方案中,所述降低Fc域对Fc受体的结合亲和力和/或效应器功能的氨基酸突变是氨基酸替代。在一个实施方案中,Fc域包含在选自下组的位置处的氨基酸替代:E233,L234,L235,N297,P331和P329(编号方式依照Kabat EU索引)。在一个更特定的实施方案中,Fc域包含在选自下组的位置处的氨基酸替代:L234,L235和P329(编号方式依照Kabat EU索引)。在一些实施方案中,Fc域包含氨基酸替代L234A和L235A(编号方式依照Kabat EU索引)。在一个此类实施方案中,Fc域是IgG₁ Fc域,特别是人IgG₁ Fc域。在一个实施方案中,Fc域包含在位置P329处的氨基酸替代。在一个更加特定的实施方案中,氨基酸替代是P329A或P329G,特别是P329G(编号方式依照Kabat EU索引)。在一个实施方案中,Fc域包含在位置P329处的氨基酸替代和又一处在选自以下位置处的氨基酸替代:E233,L234,L235,N297和P331(编号方式依照Kabat EU索引)。在一个更加特定的实施方案中,所述又一处氨基酸替代是E233P,L234A,L235A,L235E,N297A,N297D或P331S。在具体的实施方案中,所述Fc域包含在位置P329,L234和L235处的氨基酸替代(编号方式依照Kabat EU索引)。在更具体的实施方案中,所述Fc域包含氨基酸突变L234A,L235A和P329G(“P329G LALA”)。在一个此类实施方案中,Fc域是IgG₁ Fc域,特别是人IgG₁ Fc域。氨基酸替代组合“P329G LALA”几乎完全消除了人IgG₁ Fc域的Fc γ 受体(以及补体)结合,如记载于PCT公开文本no.WO 2012/130831,其通过提述完整并入本文。WO 2012/130831还描述了制备此类突变体Fc域的方法和用于测定其特性(诸如Fc受体结合或效应器功能)的方法。

[0560] IgG₄抗体展现出与IgG₁抗体相比降低的对Fc受体的结合亲和力和降低的效应器功能。因此,在一些实施方案中,Fc域是IgG₄ Fc域,特别是人IgG₄ Fc域。在一个实施方案中,所述IgG₄ Fc域包含在位置S228处的氨基酸替代,具体是氨基酸替代S228P(编号方式依照Kabat EU索引)。为了进一步降低其对Fc受体的结合亲和力和/或其效应器功能,在一个实施方案中,所述IgG₄ Fc域包含在位置L235处的氨基酸替代,具体是氨基酸替代L235E(编号方式依照Kabat EU索引)。在另一个实施方案中,所述IgG₄ Fc域包含在位置P329处的氨基

酸替代,具体是氨基酸替代P329G(编号方式依照Kabat EU索引)。在一个具体的实施方案中,所述IgG₄ Fc域包含在位置S228,L235和P329处的氨基酸替代,具体是氨基酸替代S228P,L235E和P329G(编号方式依照Kabat EU索引)。此类IgG₄ Fc域突变体及其Fc γ 受体结合特性记载于PCT公开文本No.WO 2012/130831,其通过提述完整并入本文。

[0561] 在一个具体的实施方案中,展现出与天然IgG₁ Fc域相比降低的对Fc受体的结合亲和力和/或降低的效应器功能的Fc域是包含氨基酸替代L234A,L235A和任选地P329G的人IgG₁ Fc域,或包含氨基酸替代S228P,L235E和任选地P329G的人IgG₄ Fc域(编号方式依照Kabat EU索引)。

[0562] 在某些实施方案中,已消除Fc域的N-糖基化。在一个此类实施方案中,所述Fc域包含在位置N297处的氨基酸突变,特别是用丙氨酸(N297A)或天冬氨酸(N297D)或甘氨酸(N297G)替换天冬酰胺的氨基酸替代(编号方式依照Kabat EU索引)。

[0563] 在上文和PCT公开文本no.WO 2012/130831中描述的Fc域以外,具有降低的Fc受体结合和/或效应器功能的Fc域还包括那些具有Fc域残基238,265,269,270,297,327和329中一个或多个的替代的(美国专利No.6,737,056)(编号方式依照Kabat EU索引)。此类Fc突变体包括具有在氨基酸位置265,269,270,297和327的两个或更多个处的替代的Fc突变体,包括所谓的“DANA”Fc突变体,其具有残基265和297到丙氨酸的替代(美国专利No.7,332,581)。

[0564] 可以使用本领域中公知的遗传或化学方法通过氨基酸删除,替代,插入或修饰来制备突变体Fc域。遗传方法可以包括编码DNA序列的位点特异性诱变,PCR,基因合成等。正确的核苷酸变化可以通过例如测序来验证。

[0565] 可以容易地测定对Fc受体的结合,例如通过ELISA或通过使用标准仪器诸如BIAcore仪(GE Healthcare)的表面等离子共振(SPR)进行,并且Fc受体诸如可通过重组表达获得。或者,可使用已知表达特定Fc受体的细胞系,如表达Fc γ IIIa受体的人NK细胞来估测Fc域或包含Fc域的分子对Fc受体的结合亲和力。

[0566] 可通过本领域中已知的方法来测量Fc域或包含Fc域的分子,例如抗体的效应器功能。本文中描述了用于测量ADCC的一种合适的测定法。评估感兴趣分子的ADCC活性的体外测定法的其它例子记载于美国专利No.5,500,362;Hellstrom等,Proc Natl Acad Sci USA 83,7059-7063(1986)和Hellstrom等,Proc Natl Acad Sci USA 82,1499-1502(1985);美国专利No.5,821,337;Bruggemann等,J Exp Med 166,1351-1361(1987)。或者,可采用非放射性测定方法(参见例如用于流式细胞术的ACTITM非放射性细胞毒性测定法(CellTechnology,Inc.Mountain View,CA);和CytoTox 96[®]非放射性细胞毒性测定法(Promega,Madison,WI))。对于此类测定法有用的效应细胞包括外周血单个核细胞(PBMC)和天然杀伤(NK)细胞。或者/另外,可体内评估感兴趣分子的ADCC活性,例如在动物模型中,诸如披露于Clynes等,Proc Natl Acad Sci USA 95,652-656(1998)的。

[0567] 在一些实施方案中,Fc域对补体成分(特别是对C1q)的结合是降低的。因而,在其中Fc域工程化为具有降低的效应器功能的一些实施方案中,所述降低的效应器功能包括降低的CDC。可实施C1q结合测定法来测定Fc域或包含Fc域的分子,例如抗体是否能够结合C1q并因此具有CDC活性。参见例如WO 2006/029879和WO 2005/100402中的C1q和C3c结合ELISA。为了评估补体活化,可实施CDC测定法(参见例如Gazzano-Santoro等,J Immunol

Methods 202,163 (1996);Cragg等,Blood 101,1045-1052 (2003);及Cragg和Glennie,Blood 103,2738-2743 (2004))。

[0568] 抗原结合模块

[0569] 治疗剂中包含的抗体可以是双特异性的,即它包含至少两种能够特异性结合两种不同抗原性决定簇的抗原结合模块。依照具体实施方案,所述抗原结合模块是Fab分子(即由各自包含可变域和恒定域的重链和轻链构成的抗原结合域)。在一个实施方案中,所述Fab分子是人的。在另一个实施方案中,所述Fab分子是人源化的。在再一个实施方案中,所述Fab分子包含人重链和轻链恒定域。

[0570] 在一些实施方案中,抗原结合模块中至少一个是交换Fab分子。此类修饰减少来自不同Fab分子的重链和轻链的错误配对,由此改进了重组生产中抗体的产量和纯度。在可用于抗体的一种具体的交换Fab分子中,Fab轻链和Fab重链的可变域(分别是VL和VH)是交换的。然而,甚至在有这种域交换的情况下,由于错配的重和轻链之间所谓的Bence Jones型相互作用,抗体的制备物仍然可能包含某些副产物(参见Schaefer et al,PNAS,108 (2011) 11187-11191)。为了进一步减少来自不同Fab分子的重和轻链的错配及如此提高想要的抗体的纯度和产量,可以在特异性结合靶细胞抗原的Fab分子或特异性结合活化性T细胞抗原的Fab分子任一的CH1和CL域中的特定氨基酸位置引入具有相反电荷的带电荷的氨基酸。在抗体中包含的常规Fab分子中(诸如例如图6A-C,G-J中所示)或在抗体中包含的VH/VL交换Fab分子中(诸如例如图6D-F,K-N中所示)(但并不在二者中都)进行电荷修饰。在具体的实施方案中,在抗体中包含的常规Fab分子(它在具体的实施方案中特异性结合靶细胞抗原)中进行电荷修饰。

[0571] 在依照本发明的一个具体的实施方案中,所述抗体能够同时结合靶细胞抗原(特别是肿瘤细胞抗原)和活化性T细胞抗原,特别是CD3。在一个实施方案中,所述抗体能够通过同时结合靶细胞抗原和活化性T细胞抗原来交联T细胞和靶细胞。在一个甚至更具体的实施方案中,此类同时结合导致靶细胞(特别是肿瘤细胞)的裂解。在一个实施方案中,此类同时结合导致T细胞的活化。在其它实施方案中,此类同时结合导致T淋巴细胞(特别是细胞毒性T淋巴细胞)的细胞应答,其选自下组:增殖,分化,细胞因子分泌,细胞毒性效应分子释放,细胞毒性活性,和活化标志物的表达。在一个实施方案中,在没有同时结合靶细胞抗原的情况下抗体对活化性T细胞抗原,特别是CD3的结合不导致T细胞活化。

[0572] 在一个实施方案中,抗体能够将T细胞的细胞毒性活性重定向于靶细胞。在一个具体的实施方案中,所述重定向不依赖于靶细胞的MHC介导的肽抗原呈递和/或T细胞的特异性。

[0573] 具体地,依照本发明任何实施方案的T细胞是细胞毒性T细胞。在一些实施方案中,所述T细胞是CD4⁺或CD8⁺T细胞,特别是CD8⁺T细胞。

[0574] (i) 活化性T细胞抗原结合模块

[0575] 在一些实施方案中,治疗剂中包含的抗体,特别是双特异性抗体包含至少一个特异性结合活化性T细胞抗原的抗原结合模块,特别是Fab分子(本文中也称作“活化性T细胞抗原结合模块,或活化性T细胞抗原结合Fab分子”)。在一个具体的实施方案中,所述抗体包含不超过一个能够特异性结合活化性T细胞抗原的抗原结合模块。在一个实施方案中,所述抗体提供对活化性T细胞抗原的单价结合。

[0576] 在具体的实施方案中,特异性结合活化性T细胞抗原的抗原结合模块是本文所述交换Fab分子,即其中Fab重和轻链的可变域VH和VL或恒定域CH1和CL彼此交换/替换的Fab分子。在此类实施方案中,特异性结合靶细胞抗原的抗原结合模块优选是常规Fab分子。在抗体中包含超过一个特异性结合靶细胞抗原的抗原结合模块,特别是Fab分子的实施方案中,特异性结合活化性T细胞抗原的抗原结合模块优选是交换Fab分子且特异性结合靶细胞抗原的抗原结合模块是常规Fab分子。

[0577] 在备选实施方案中,特异性结合活化性T细胞抗原的抗原结合模块是常规Fab分子。在此类实施方案中,特异性结合靶细胞抗原的抗原结合模块是本文所述交换Fab分子,即其中Fab重和轻链的可变域VH和VL或恒定域CH1和CL彼此交换/替换的Fab分子。

[0578] 在一个实施方案中,所述活化性T细胞抗原选自由CD3,CD28,CD137(也称作4-1BB),CD40,CD226,OX40,GITR,CD27,HVEM,和CD127组成的组。

[0579] 在一个具体的实施方案中,所述活化性T细胞抗原是CD3,特别是人CD3(SEQ ID NO:115)或食蟹猴CD3(SEQ ID NO:116),最特别是人CD3。在一个具体的实施方案中,活化性T细胞抗原结合模块对于人和食蟹猴CD3是交叉反应性的(即特异性结合)。在一些实施方案中,所述活化性T细胞抗原是CD3的 ϵ 亚基(CD3 ϵ)。

[0580] 在一些实施方案中,活化性T细胞抗原结合模块特异性结合CD3,特别是CD3 ϵ ,且包含至少一个选自下组的重链互补决定区(CDR):SEQ ID NO:32,SEQ ID NO:33和SEQ ID NO:34和至少一个选自下组的轻链CDR:SEQ ID NO:35,SEQ ID NO:36,SEQ ID NO:37。

[0581] 在一个实施方案中,所述CD3结合抗原结合模块,特别是Fab分子包含包含SEQ ID NO:32的重链CDR1,SEQ ID NO:33的重链CDR2,SEQ ID NO:34的重链CDR3的重链可变区,和包含SEQ ID NO:35的轻链CDR1,SEQ ID NO:36的轻链CDR2,和SEQ ID NO:37的轻链CDR3的轻链可变区。

[0582] 在一个实施方案中,所述CD3结合抗原结合模块,特别是Fab分子包含与SEQ ID NO:38至少约95%,96%,97%,98%,99%或100%相同的重链可变区序列和与SEQ ID NO:39至少约95%,96%,97%,98%,99%或100%相同的轻链可变区序列。

[0583] 在一个实施方案中,所述CD3结合抗原结合模块,特别是Fab分子包含包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列的轻链可变区。

[0584] 在一个实施方案中,所述CD3结合抗原结合模块,特别是Fab分子包含SEQ ID NO:38的重链可变区序列和SEQ ID NO:39的轻链可变区序列。

[0585] 在一些实施方案中,活化性T细胞抗原结合模块特异性结合CD3,特别是CD3 ϵ ,且包含至少一个选自下组的重链HVR:SEQ ID NO:120,SEQ ID NO:121和SEQ ID NO:122和至少一个选自下组的轻链HVR:SEQ ID NO:123,SEQ ID NO:124,SEQ ID NO:125。

[0586] 在一个实施方案中,所述CD3结合抗原结合模块,特别是Fab分子包含包含SEQ ID NO:120的重链HVR 1(H1-HVR),SEQ ID NO:121的H2-HVR,和SEQ ID NO:122的H3-HVR的重链可变区,和包含SEQ ID NO:123的轻链HVR 1(L1-HVR),SEQ ID NO:124的L2-HVR和SEQ ID NO:125的L3-HVR的轻链可变区。

[0587] 在一个实施方案中,所述CD3结合抗原结合模块,特别是Fab分子包含与SEQ ID NO:126至少约95%,96%,97%,98%,99%或100%相同的重链可变区序列和与SEQ ID NO:127至少约95%,96%,97%,98%,99%或100%相同的轻链可变区序列。

[0588] 在一个实施方案中,所述CD3结合抗原结合模块,特别是Fab分子包含包含SEQ ID NO:126的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列的轻链可变区。

[0589] 在一个实施方案中,所述CD3结合抗原结合模块,特别是Fab分子包含SEQ ID NO:126的重链可变区序列和SEQ ID NO:127的轻链可变区序列。

[0590] (ii) 靶细胞抗原结合模块

[0591] 在一些实施方案中,治疗剂中包含的抗体,特别是双特异性抗体包含至少一个特异性结合靶细胞抗原的抗原结合模块,特别是Fab分子。在某些实施方案中,所述抗体包含两个特异性结合靶细胞抗原的抗原结合模块,特别是Fab分子。在一个具体的此类实施方案中,这些抗原结合模块中的每一个特异性结合相同抗原性决定簇。在一个甚至更加具体的实施方案中,这些抗原结合模块都是相同的,即它们包含相同的氨基酸序列,包括相同的本文所述CH1和CL域中的氨基酸替代(如果有的话)。在一个实施方案中,所述抗体包含特异性结合靶细胞抗原的免疫球蛋白分子。在一个实施方案中,所述抗体包含不超过两个特异性结合靶细胞抗原的抗原结合模块,特别是Fab分子。

[0592] 在具体的实施方案中,特异性结合靶细胞抗原的抗原结合模块是常规Fab分子。在此类实施方案中,特异性结合活化性T细胞抗原的抗原结合模块是本文所述交换Fab分子,即其中Fab重和轻链的可变域VH和VL或恒定域CH1和CL彼此交换/替换的Fab分子。

[0593] 在备选实施方案中,特异性结合靶细胞抗原的抗原结合模块是本文所述交换Fab分子,即其中Fab重和轻链的可变域VH和VL或恒定域CH1和CL彼此交换/替换的Fab分子。在此类实施方案中,特异性结合活化性T细胞抗原的抗原结合模块是常规Fab分子。

[0594] 所述靶细胞抗原结合模块能够将抗体引导至靶部位(例如表达靶细胞抗原的特定类型肿瘤细胞)。

[0595] 在一个实施方案中,靶细胞抗原是CEA,特别是人CEA。

[0596] 在一个实施方案中,特异性结合CEA的抗原结合模块,特别是Fab分子包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:14的重链互补决定区(CDR)1,SEQ ID NO:15的重链CDR 2,和SEQ ID NO:16的重链CDR3,和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:17的轻链CDR 1,SEQ ID NO:18的轻链CDR 2和SEQ ID NO:19的轻链CDR 3。在又一个实施方案中,特异性结合CEA的抗原结合模块,特别是Fab分子包含与SEQ ID NO:20的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的重链可变区和与SEQ ID NO:21的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的轻链可变区。在仍有又一个实施方案中,特异性结合CEA的抗原结合模块,特别是Fab分子包含SEQ ID NO:20的重链可变区序列和SEQ ID NO:21的轻链可变区序列。

[0597] 在一个实施方案中,特异性结合CEA的抗原结合模块,特别是Fab分子包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:136的重链互补决定区(CDR)1,SEQ ID NO:137的重链CDR 2,和SEQ ID NO:138的重链CDR3,和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:139的轻链CDR 1,SEQ ID NO:140的轻链CDR 2和SEQ ID NO:141的轻链CDR 3。在又一个实施方案中,特异性结合CEA的抗原结合模块,特别是Fab分子包含与SEQ ID NO:142的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的重链可变区和与SEQ ID NO:143的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的轻链可变区。在仍有又一个实施方案中,特异性结合CEA的抗原结合模块,特别是Fab分子包含SEQ ID NO:142的重链可变区序列和SEQ ID NO:143的

轻链可变区序列。

[0598] 在一个实施方案中,该靶细胞抗原是B细胞抗原,特别是恶性B细胞抗原。在一个实施方案中,该靶细胞抗原是细胞表面抗原。在一个实施方案中,该靶细胞抗原选自CD20, CD19, CD22, ROR-1, CD37和CD5组成的组。

[0599] 在一个实施方案中,该靶细胞抗原是CD20,特别是人CD20。

[0600] 在一个实施方案中,特异性结合CD20的抗原结合模块,特别是Fab分子包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:4的重链互补决定区(CDR)1,SEQ ID NO:5的重链CDR 2,和SEQ ID NO:6的重链CDR 3,和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:7的轻链CDR 1,SEQ ID NO:8的轻链CDR 2和SEQ ID NO:9的轻链CDR 3。在又一个实施方案中,特异性结合CD20的抗原结合模块,特别是Fab分子包含与SEQ ID NO:10的序列至少95%,96%,97%, 98%,或99%同一的重链可变区和与SEQ ID NO:11的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的轻链可变区。在仍有又一个实施方案中,特异性结合CD20的抗原结合模块,特别是Fab分子包含SEQ ID NO:10的重链可变区序列和SEQ ID NO:11的轻链可变区序列。

[0601] 在一个实施方案中,特异性结合CD20的抗原结合模块,特别是Fab分子包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:128的重链HVR 1(H1-HVR),SEQ ID NO:129的H2-HVR,和SEQ ID NO:130的H3-HVR;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:131的轻链HVR 1(L1-HVR),SEQ ID NO:132的L2-HVR和SEQ ID NO:133的L3-HVR。在又一个实施方案中,特异性结合CD20的抗原结合模块,特别是Fab分子包含与SEQ ID NO:134的序列至少95%,96%, 97%,98%,或99%同一的重链可变区和与SEQ ID NO:135的序列至少95%,96%,97%, 98%,或99%同一的轻链可变区。在仍有又一个实施方案中,特异性结合CD20的抗原结合模块,特别是Fab分子包含SEQ ID NO:134的重链可变区序列和SEQ ID NO:135的轻链可变区序列。

[0602] 在一个实施方案中,该靶细胞抗原是CD19,特别是人CD19。

[0603] 在一个实施方案中,特异性结合CD19的抗原结合模块,特别是Fab分子包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:48的重链互补决定区(CDR)1,SEQ ID NO:49的重链CDR 2,和SEQ ID NO:50的重链CDR3,和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:51的轻链CDR 1,SEQ ID NO:52的轻链CDR 2和SEQ ID NO:53的轻链CDR 3。在又一个实施方案中,特异性结合CD19的抗原结合模块,特别是Fab分子包含与SEQ ID NO:54的序列至少95%,96%, 97%,98%,或99%同一的重链可变区和与SEQ ID NO:55的序列至少95%,96%,97%, 98%,或99%同一的轻链可变区。在仍有又一个实施方案中,特异性结合CD19的抗原结合模块,特别是Fab分子包含SEQ ID NO:54的重链可变区序列和SEQ ID NO:55的轻链可变区序列。

[0604] 在另一个实施方案中,特异性结合CD19的抗原结合模块,特别是Fab分子包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:59的重链互补决定区(CDR)1,SEQ ID NO:60的重链CDR 2,和SEQ ID NO:61的重链CDR3,和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:62的轻链CDR 1,SEQ ID NO:63的轻链CDR 2和SEQ ID NO:64的轻链CDR 3。在又一个实施方案中,特异性结合CD19的抗原结合模块,特别是Fab分子包含与SEQ ID NO:65的序列至少95%, 96%,97%,98%,或99%同一的重链可变区和与SEQ ID NO:66的序列至少95%,96%, 97%,98%,或99%同一的轻链可变区。在仍有又一个实施方案中,特异性结合CD19的抗原

结合模块,特别是Fab分子包含SEQ ID NO:65的重链可变区序列和SEQ ID NO:66的轻链可变区序列。

[0605] 在另一个实施方案中,特异性结合CD19的抗原结合模块,特别是Fab分子包含

[0606] (i) 重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:67的重链互补决定区(CDR)1,SEQ ID NO:68的重链CDR 2,和SEQ ID NO:69的重链CDR 3,和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:70的轻链CDR 1,SEQ ID NO:71的轻链CDR 2和SEQ ID NO:72的轻链CDR 3;

[0607] (ii) 重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:75的重链互补决定区(CDR)1,SEQ ID NO:76的重链CDR 2,和SEQ ID NO:77的重链CDR 3,和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:78的轻链CDR 1,SEQ ID NO:79的轻链CDR 2和SEQ ID NO:80的轻链CDR 3;

[0608] (iii) 重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:83的重链互补决定区(CDR)1,SEQ ID NO:84的重链CDR 2,和SEQ ID NO:85的重链CDR 3,和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:86的轻链CDR 1,SEQ ID NO:87的轻链CDR 2和SEQ ID NO:88的轻链CDR 3;

[0609] (iv) 重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:91的重链互补决定区(CDR)1,SEQ ID NO:92的重链CDR 2,和SEQ ID NO:93的重链CDR 3,和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:94的轻链CDR 1,SEQ ID NO:95的轻链CDR 2和SEQ ID NO:96的轻链CDR 3;

[0610] (v) 重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:99的重链互补决定区(CDR)1,SEQ ID NO:100的重链CDR 2,和SEQ ID NO:101的重链CDR 3,和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:102的轻链CDR 1,SEQ ID NO:103的轻链CDR 2和SEQ ID NO:104的轻链CDR 3;
或

[0611] (vi) 重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:107的重链互补决定区(CDR)1,SEQ ID NO:108的重链CDR 2,和SEQ ID NO:109的重链CDR 3,和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:110的轻链CDR 1,SEQ ID NO:111的轻链CDR 2和SEQ ID NO:112的轻链CDR 3。

[0612] 在又一个实施方案中,特异性结合CD19的抗原结合模块,特别是Fab分子包含

[0613] (i) 与SEQ ID NO:73的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的重链可变区和与SEQ ID NO:74的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的轻链可变区;

[0614] (ii) 与SEQ ID NO:81的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的重链可变区,和与SEQ ID NO:82的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的轻链可变区;

[0615] (iii) 与SEQ ID NO:89的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的重链可变区和与SEQ ID NO:90的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的轻链可变区;

[0616] (iv) 与SEQ ID NO:97的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的重链可变区和与SEQ ID NO:98的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的轻链可变区;

[0617] (v) 与SEQ ID NO:105的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的重链可变区和与SEQ ID NO:106的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的轻链可变区;或

[0618] (vi) 与SEQ ID NO:113的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的重链可变区和与SEQ ID NO:114的序列至少95%,96%,97%,98%,或99%同一的轻链可变区。

[0619] 在仍有又一个实施方案中,特异性结合CD19的抗原结合模块,特别是Fab分子包含

[0620] (i) SEQ ID NO:73的重链可变区序列和SEQ ID NO:74的轻链可变区序列;

[0621] (ii) SEQ ID NO:81的重链可变区序列和SEQ ID NO:82的轻链可变区序列;

[0622] (iii) SEQ ID NO:89的重链可变区序列和SEQ ID NO:90的轻链可变区序列;

[0623] (iv) SEQ ID NO:97的重链可变区序列和SEQ ID NO:98的轻链可变区序列;

[0624] (v) SEQ ID NO:105的重链可变区序列和SEQ ID NO:106的轻链可变区序列;或

[0625] (vi) SEQ ID NO:113的重链可变区序列和SEQ ID NO:114的轻链可变区序列。

[0626] 电荷修饰

[0627] 治疗剂中包含的抗体,特别是多特异性抗体可以在其中包含的Fab分子中包含如下的氨基酸替代,其特别有效地减少轻链与非匹配重链的错配(Bence-Jones型副产物),在它们的一个(或多个,在分子包含超过两个抗原结合Fab分子的情况中)结合臂具有VH/VL交换的基于Fab的双/多特异性抗原结合分子的生产中可发生所述错配(还可参见PCT公开文本No.WO2015/150447,特别是其中的实施例,通过援引完整收入本文)。

[0628] 因而,在具体的实施方案中,治疗剂中包含的抗体包含

[0629] (a) 特异性结合第一抗原的第一Fab分子,

[0630] (b) 特异性结合第二抗原的第二Fab分子,且其中Fab轻链和Fab重链的可变域VL和VH是彼此替换的,

[0631] 其中第一抗原是活化性T细胞抗原且第二抗原是靶细胞抗原,或第一抗原是靶细胞抗原且第二抗原是活化性T细胞抗原;且

[0632] 其中

[0633] i) 在a)下的第一Fab分子的恒定域CL中位置124处的氨基酸用带正电荷的氨基酸替代(编号方式依照Kabat),且其中在a)下的第一Fab分子的恒定域CH1中位置147处的氨基酸或位置213处的氨基酸用带负电荷的氨基酸替代(编号方式依照Kabat EU索引);或

[0634] ii) 在b)下的第二Fab分子的恒定域CL中位置124处的氨基酸用带正电荷的氨基酸替代(编号方式依照Kabat),且其中在b)下的第二Fab分子的恒定域CH1中位置147处的氨基酸或位置213处的氨基酸用带负电荷的氨基酸替代(编号方式依照Kabat EU索引)。

[0635] 抗体没有同时包含i)和ii)下提到的修饰。第二Fab分子的恒定域CL和CH1没有彼此替换(即保持不交换)。

[0636] 在抗体的一个实施方案中,在a)下的第一Fab分子的恒定域CL中位置124处的氨基酸用赖氨酸(K),精氨酸(R)或组氨酸(H)独立替代(编号方式依照Kabat)(在一个优选的实施方案中,用赖氨酸(K)或精氨酸(R)独立替代),且在a)下的第一Fab分子的恒定域CH1中位置147处的氨基酸或位置213处的氨基酸用谷氨酸(E),或天冬氨酸(D)独立替代(编号方式依照Kabat EU索引)。

[0637] 在又一个实施方案中,在a)下的第一Fab分子的恒定域CL中位置124处的氨基酸用赖氨酸(K),精氨酸(R)或组氨酸(H)独立替代(编号方式依照Kabat),且在a)下的第一Fab分子的恒定域CH1中位置147处的氨基酸用谷氨酸(E),或天冬氨酸(D)独立替代(编号方式依照Kabat EU索引)。

[0638] 在一个具体的实施方案中,在a)下的第一Fab分子的恒定域CL中位置124处的氨基酸用赖氨酸(K),精氨酸(R)或组氨酸(H)独立替代(编号方式依照Kabat)(在一个优选的实施方案中,用赖氨酸(K)或精氨酸(R)独立替代)且位置123处的氨基酸用赖氨酸(K),精氨酸(R)或组氨酸(H)独立替代(编号方式依照Kabat)(在一个优选的实施方案中,用赖氨酸(K)或精氨酸(R)独立替代),且在a)下的第一Fab分子的恒定域CH1中位置147处的氨基酸用谷

氨酸(E),或天冬氨酸(D)独立替代(编号方式依照Kabat EU索引)且位置213处的氨基酸用谷氨酸(E),或天冬氨酸(D)独立替代(编号方式依照Kabat EU索引)。

[0639] 在一个更加具体的实施方案中,在a)下的第一Fab分子的恒定域CL中位置124处的氨基酸用赖氨酸(K)替代(编号方式依照Kabat)且位置123处的氨基酸用赖氨酸(K)或精氨酸(R)替代(编号方式依照Kabat),且在a)下的第一Fab分子的恒定域CH1中位置147处的氨基酸用谷氨酸(E)替代(编号方式依照Kabat EU索引)且位置213处的氨基酸用谷氨酸(E)替代(编号方式依照Kabat EU索引)。

[0640] 在一个甚至更加具体的实施方案中,在a)下的第一Fab分子的恒定域CL中位置124处的氨基酸用赖氨酸(K)替代(编号方式依照Kabat)且位置123处的氨基酸用精氨酸(R)替代(编号方式依照Kabat),且在a)下的第一Fab分子的恒定域CH1中位置147处的氨基酸用谷氨酸(E)替代(编号方式依照Kabat EU索引)且位置213处的氨基酸用谷氨酸(E)替代(编号方式依照Kabat EU索引)。

[0641] 在具体的实施方案中,a)下的第一Fab分子的恒定域CL是卡帕同种型的。

[0642] 或者,依照上文实施方案的氨基酸替代可以在b)下的第二Fab分子的恒定域CL和恒定域CH1中进行,代替在a)下的第一Fab分子的恒定域CL和恒定域CH1中进行。在特定的此类实施方案中,b)下的第二Fab分子的恒定域CL是卡帕同种型的。

[0643] 抗体可以进一步包含特异性结合所述第一抗原的第三Fab分子。在具体的实施方案中,所述第三Fab分子与a)下的第一Fab分子相同。在这些实施方案中,依照上文实施方案的氨基酸替代会在第一Fab分子和第三Fab分子每一个的恒定域CL和恒定域CH1中进行。或者,依照上文实施方案的氨基酸替代可以在b)下的第二Fab分子的恒定域CL和恒定域CH1中进行,但是不在第一Fab分子和第三Fab分子的恒定域CL和恒定域CH1中进行。

[0644] 在具体的实施方案中,抗体进一步包含由能够稳定联合的第一亚基和第二亚基构成的Fc域。

[0645] 治疗方案

[0646] 依照本发明,II型抗CD20抗体和治疗剂可以以各种方式施用(例如就施用路径,剂量和/或时机而言),只要II型抗CD20抗体在治疗剂之前施用且到施用治疗剂的时候II型抗CD20抗体的施用在所治疗的受试者中有效诱导B细胞数目减少。

[0647] 不希望受理论束缚,在施用治疗剂之前受试者中的B细胞数目减少会降低或阻止针对治疗剂的抗药物抗体(ADA)形成及如此降低或阻止治疗剂功效损失和/或受试者中与ADA相关的不良事件,和/或会降低或阻止与治疗剂的施用相关的细胞因子释放及如此降低或阻止受试者中与治疗剂的施用相关的不良事件(诸如IRR)。

[0648] 在一个实施方案中,与不施用II型抗CD20抗体的相应治疗方案相比,治疗方案有效降低受试者中响应治疗剂的施用而发生的抗药物抗体(ADA)形成。在一个实施方案中,与不施用II型抗CD20抗体的相应治疗方案相比,ADA形成降低至少2倍,至少3倍,至少4倍,至少5倍,至少10倍,至少20倍,至少50倍,或至少100倍。在一个实施方案中,ADA形成本质上阻止。在一个实施方案中,ADA形成的降低或阻止是施用治疗剂后1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20或21天,或1个月,2个月,3个月,4个月,5个月,6个月,12个月,或更多。在一个实施方案中,ADA的降低或阻止是施用治疗剂后约2个月。

[0649] 在一个实施方案中,施用治疗剂后受试者中的ADA滴度没有超出施用治疗剂前受

试者中的ADA滴度。在一个实施方案中,施用治疗剂后受试者中的ADA滴度超出施用治疗剂前受试者中的ADA滴度没有达到超过1.1倍,超过1.2倍,超过1.5倍,超过2倍,超过3倍,超过4倍,超过5倍,或超过10倍。在一个实施方案中,与施用治疗剂前受试者中的ADA滴度相比,施用治疗剂后受试者中的ADA滴度升高不到1.1倍,不到1.2倍,不到1.5倍,不到2倍,不到3倍,不到4倍,不到5倍,或不到10倍。在一个实施方案中,施用治疗剂后受试者中的ADA滴度是施用治疗剂后1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20或21天,或1个月,2个月,3个月,4个月,5个月,6个月,12个月,或更多时的ADA滴度。在一个实施方案中,施用治疗剂后受试者中的ADA滴度是施用治疗剂后约2个月时的ADA滴度。

[0650] 在一个实施方案中,施用治疗剂后,特别是施用治疗剂后1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20或21天,或1个月,2个月,3个月,4个月,5个月,6个月,12个月,或更多,受试者中本质上检测不到ADA。

[0651] ADA可以通过本领域已知方法来检测(参见例如Mire-Sluis et al., J Immunol Methods (2004) 289,1-16; Nencini et al., Drug Dev Res (2014), 75 Suppl 1, S4-6; Schouwenburg et al., Nat Rev Rheumatol (2015) 9,164-172)。检测ADA的一种例示性方法是三明治式/夹心式ELISA,其中将治疗剂(例如抗体)包被至测定板,暴露于所治疗受试者的血清,并通过经过标记的治疗剂来检测ADA的存在。检测ADA的另一种例示性方法是抗原结合测试,其中使来自所治疗受试者血清的免疫球蛋白在蛋白质(例如蛋白A Sepharose)上聚集并通过经过标记的治疗剂来检测ADA的存在。

[0652] ADA可以例如在取自受试者的血液样品中检测。在一个实施方案中,施用治疗剂后,特别是施用治疗剂后1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20或21天,或1个月,2个月,3个月,4个月,5个月,6个月,12个月,或更多,受试者中的ADA滴度(如例如在取自受试者的血液样品中测量的)没有超出约10,约20,约30,约40,约50,约100,约200,或约500,或约1000的滴度(即样品给出测定法截留点以上的测定信号的最高可能稀释度)。

[0653] 在一些实施方案中,与不施用II型抗CD20抗体的相应治疗方案相比,治疗方案提高治疗剂的功效。在一些实施方案中,与不施用II型抗CD20抗体的相应治疗方案相比,治疗方案提高受试者的总体存活。在一些实施方案中,与不施用II型抗CD20抗体的相应治疗方案相比,治疗方案提高受试者的无进展存活。

[0654] 在一个实施方案中,与不施用II型抗CD20抗体的相应治疗方案相比,治疗方案有效降低受试者中与治疗剂的施用相关的细胞因子释放。在一个实施方案中,与不施用II型抗CD20抗体的相应治疗方案相比,细胞因子释放降低至少2倍,至少3倍,至少4倍,至少5倍,至少10倍,至少20倍,至少50倍,或至少100倍。在一个实施方案中,细胞因子释放本质上阻止。在一个实施方案中,细胞因子释放的降低或阻止是施用治疗剂后1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23或24小时。在一个实施方案中,细胞因子释放的降低或阻止在施用治疗剂后头24小时内。

[0655] 在一个实施方案中,施用治疗剂后受试者中的细胞因子浓度(如例如在取自受试者的血液样品中测量)没有超出施用治疗剂前受试者中的细胞因子浓度。在一个实施方案中,施用治疗剂后受试者中的细胞因子浓度超出施用治疗剂前受试者中的细胞因子浓度不超过1.1倍,超过1.2倍,超过1.5倍,超过2倍,超过3倍,超过4倍,超过5倍,超过10倍,超过20

倍,超过50倍或超过100倍。在一个实施方案中,与施用治疗剂前受试者中的细胞因子浓度相比,施用治疗剂后受试者中的细胞因子浓度升高不到1.1倍,不到1.2倍,不到1.5倍,不到2倍,不到3倍,不到4倍,不到5倍,不到10倍,不到20倍,不到50倍或不到100倍。在一个实施方案中,施用治疗剂后受试者中的细胞因子浓度是施用治疗剂后1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23或24小时时的细胞因子浓度。在一个实施方案中,施用治疗剂后受试者中的细胞因子浓度是施用治疗剂后头24小时内细胞因子浓度。

[0656] 在一个实施方案中,施用治疗剂后,特别是施用治疗剂后1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23或24小时,本质上检测不到受试者中细胞因子浓度的升高。

[0657] 细胞因子可以通过本领域已知方法来检测,诸如例如ELISA,FACS或Luminex®测定法。

[0658] 细胞因子可以例如在取自受试者的血液样品中检测。在一个实施方案中,细胞因子浓度是受试者的血液。

[0659] 在一些实施方案中,细胞因子是选自由肿瘤坏死因子阿尔法(TNF- α),干扰素伽马(IFN- γ),白介素-6(IL-6),白介素-10(IL-10),白介素-2(IL-2)和白介素-8(IL-8)组成,特别是由TNF- α ,IFN- γ 和IL-6组成的组的一种或多种细胞因子。在一些实施方案中,细胞因子是TNF- α 。在一些实施方案中,细胞因子是IFN- γ 。在一些实施方案中,细胞因子是IL-6。在一些实施方案中,细胞因子是IL-10。在一些实施方案中,细胞因子是IL-2。在一些实施方案中,细胞因子是IL-8。

[0660] 在一些实施方案中,与不施用II型抗CD20抗体的相应治疗方案相比,治疗方案提高治疗剂的安全性。在一些实施方案中,与不施用II型抗CD20抗体的相应治疗方案相比,治疗方案降低受试者中的不良事件。在一些实施方案中,与不施用II型抗CD20抗体的相应治疗方案相比,治疗方案延长治疗剂的血清半衰期。在一些实施方案中,与不施用II型抗CD20抗体的相应治疗方案相比,治疗方案降低治疗剂的毒性。

[0661] 依照本发明,II型抗CD20抗体的施用和治疗剂的施用之间的时间段足以响应II型抗CD20抗体的施用而降低受试者中的B细胞的数目。

[0662] 在一个实施方案中,时间段是3天至21天,5天至20天,7天至21天,7天至14天,5天至15天,7天至15天,8天至15天,10天至20天,10天至15天,11天至14天,或12天至13天。在一个实施方案中,时间段是7天至14天。在一个特定的实施方案中,时间段是10天至15天。在一个实施方案中,时间段是8天至15天。在一个实施方案中,时间段是5天至10天。在一个特定的实施方案中,时间段是7天。

[0663] 在一个实施方案中,时间段是约3天,约4天,约5天,约6天,约7天,约8天,约9天,约10天,约11天,约12天,约13天,约14天,约15天,约16天,约17天,约18天,约19天,约20天,约21天,约22天,约23天,约24天,约25天,约26天,约27天,约28天,约29天,或约30天。

[0664] 在一个实施方案中,时间段是至少3天,至少4天,至少5天,至少6天,至少7天,至少8天,至少9天,至少10天,至少11天,至少12天,至少13天,至少14天,或至少15天。在一个特定的实施方案中,时间段是至少5天。在又一个特定实施方案中,时间段是至少7天。

[0665] 在一个实施方案中,时间段介于II型抗CD20抗体的最后一次施用和治疗剂的(第一次,如果数次的话)施用之间。在一个实施方案中,在时间段期间不进行治疗剂的施用。

[0666] 在一个特定的实施方案中,B细胞数目减少在受试者的血液中。在一个实施方案中,B细胞是外周血B细胞。在一个实施方案中,B细胞是正常B细胞。在一个实施方案中,B细胞是恶性和正常B细胞。在一个实施方案中,B细胞是恶性B细胞。

[0667] 在一些实施方案中,B细胞减少在受试者的组织中。在一个实施方案中,组织是肿瘤。在一个实施方案中,组织是淋巴结。在一个实施方案中,组织是脾。在一个实施方案中,组织是脾的边缘区。在一个实施方案中,B细胞是淋巴结B细胞。在一个实施方案中,B细胞是脾B细胞。在一个实施方案中,B细胞是脾边缘区B细胞。在一个实施方案中,B细胞是CD20阳性B细胞,即在它们的表面上表达CD20的B细胞。

[0668] 在一个实施方案中,B细胞数目减少是减少至少约10%,至少约15%,至少约20%,至少约25%,至少约30%,至少约35%,至少约40%,至少约45%,至少约50%,至少约55%,至少约60%,至少约65%,至少约70%,至少约75%,至少约80%,至少约85%,至少约90%,或至少约95%。在一个实施方案中,B细胞数目减少是B细胞完全消除。在一个特定的实施方案中,B细胞数目减少是受试者的(外周)血液中的B细胞数目减少至少90%,特别是至少95%。在一个实施方案中,B细胞数目减少是与在将II型抗CD20抗体(第一次,如果数次的话)施用于受试者之前受试者中的B细胞数目相比减少。

[0669] 受试者中的B细胞数目可以通过本领域知道的适合于量化患者血液或组织中的B细胞的任何方法来测定,诸如流式细胞术,免疫组织化学或免疫荧光方法,使用针对B细胞标志物诸如CD20,CD19,和/或PAX5的抗体进行。

[0670] B细胞数目也可以间接测定,通过量化患者血液或组织中B细胞标志物的蛋白质或mRNA水平进行。本领域知道的用于测定特定蛋白质水平的合适方法包括免疫测定方法,诸如酶联免疫吸附测定法(ELISA),或Western印迹,用于测定mRNA水平的方法包括例如定量RT-PCR或微阵列技术。

[0671] 所有上述方法和技术是本领域公知的且可以自标准教科书推导,诸如Lottspeich,Bioanalytik,Spektrum Akademischer Verlag,1998或Sambrook and Russell,Molecular Cloning:A Laboratory Manual,CSH Press,Cold Spring Harbor, NY,U.S.A.,2001。

[0672] 在某些实施方案中,B细胞数目减少是通过量化受试者的血液中(例如取自受试者的血液样品中)的B细胞测定的。在一个此类实施方案中,B细胞是通过流式细胞术分析量化的。流式细胞术方法(FACS)是本领域公知的,用于量化血液或组织样品中的细胞。特别是,它们容许在血液或组织样品(例如血液样品,或(部分)组织活检)中的限定总数的细胞中测定表达特定抗原(例如CD20和/或CD19)的细胞的数目。在一个实施方案中,B细胞是通过使用抗CD19抗体和/或抗CD20抗体的流式细胞术分析量化的。

[0673] 在其它实施方案中,B细胞数目减少是通过量化所述个体的组织,例如肿瘤中(例如取自受试者的组织活检中)的B细胞测定的。在一个此类实施方案中,B细胞是通过免疫组织化学或免疫荧光分析量化。在一个实施方案中,B细胞是通过使用抗CD19抗体,抗CD20抗体和/或抗PAX5抗体的免疫组织化学分析量化的。

[0674] 本发明的方法可应用于多种疾病的治疗,取决于所使用的治疗剂。

[0675] 在某些实施方案中,要治疗的疾病是增殖性病症,特别是癌症。癌症的非限制性例子包括膀胱癌,脑癌,头和颈癌,胰腺癌,肺癌,乳腺癌,卵巢癌,子宫癌,宫颈癌,子宫内膜

癌,食道癌,结肠癌,结肠直肠癌,直肠癌,胃癌,前列腺癌,血癌,皮肤癌,鳞状细胞癌,骨癌,和肾癌。可使用本发明的方法来治疗的其它细胞增殖性病征包括但不限于位于腹部,骨,胸部/乳房,消化系统,肝,胰,腹膜,内分泌腺(肾上腺,甲状旁腺,垂体,睾丸,卵巢,胸腺,甲状腺),眼,头和颈,神经系统(中枢和周围),淋巴系统,骨盆,皮肤,软组织,脾,胸区,和泌尿生殖系统中的赘生物。还包括癌前状况或损害和癌症转移。在某些实施方案中,癌症是选自肾细胞癌,皮肤癌,肺癌,结肠直肠癌,乳腺癌,脑癌,头和颈癌组成的组。在一些实施方案中,癌症是实体瘤。在一些实施方案中,癌症表达治疗剂,例如抗体的靶物。在一个实施方案中,癌症表达CEA。在另一个实施方案中,癌症表达FAP。

[0676] 在一些实施方案中,要治疗的疾病是炎性病征。在一些实施方案中,要治疗的疾病是自身免疫性疾病(即源自和针对个体自己组织的非恶性疾病或病征)。自身免疫性疾病或病征的例子包括但不限于炎性反应,诸如炎性皮肤病,包括银屑病和皮炎(例如特应性皮炎);与炎性肠病相关的反应(诸如克罗恩(Crohn)氏病和溃疡性结肠炎);皮炎;变异性状况,诸如湿疹和哮喘;类风湿性关节炎;系统性红斑狼疮(SLE)(包括但不限于狼疮肾炎,皮肤狼疮);糖尿病(例如1型糖尿病或胰岛素依赖性糖尿病);多发性硬化和青少年发作糖尿病。在一个实施方案中,疾病是移植排斥或移植物抗宿主病。

[0677] 在一些实施方案中,要治疗的疾病是传染性疾病,诸如病毒感染或细菌感染。在其它实施方案中,要治疗的疾病是神经学病征。在仍有又一些实施方案中,要治疗的疾病是代谢病征。

[0678] 涉及本发明中关注受试者中与治疗剂的施用相关的细胞因子释放降低的方面,该方法在治疗B细胞增殖性病征,特别是CD20阳性B细胞病征中特别有用,其中(CD20阳性)B细胞大量(即与健康受试者相比,罹患病征的受试者中存在数目增多的B细胞)存在。

[0679] 如此,在一个实施方案中,疾病是B细胞增殖性病征,特别是CD20阳性B细胞病征。

[0680] 在一个实施方案中,疾病是选自非霍奇金淋巴瘤(NHL),急性淋巴细胞性白血病(ALL),慢性淋巴细胞性白血病(CLL),弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL),滤泡性淋巴瘤(FL),套细胞淋巴瘤(MCL),边缘区淋巴瘤(MZL),多发性骨髓瘤(MM)或霍奇金淋巴瘤(HL)组成的组。在一个实施方案中,疾病是选自非霍奇金淋巴瘤(NHL),急性淋巴细胞性白血病(ALL),慢性淋巴细胞性白血病(CLL),弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL),滤泡性淋巴瘤(FL),套细胞淋巴瘤(MCL)和边缘区淋巴瘤(MZL)组成的组。

[0681] 在一个特定的实施方案中,疾病是NHL,特别是复发性/顽固性(r/r)NHL。在一个实施方案中,疾病是DLBCL。在一个实施方案中,疾病是FL。在一个实施方案中,疾病是MCL。在一个实施方案中,疾病是MZL。

[0682] 技术人员容易认识到在许多情况中治疗剂可能不提供治愈但可能只提供部分益处。在一些实施方案中,具有一些益处的生理变化也认为是治疗上有益的。如此,在一些实施方案中,提供生理变化的治疗剂的量认为是“有效量”或“治疗有效量”。

[0683] 需要治疗的受试者,患者,或个体典型地是哺乳动物,更加具体是人。在某些实施方案中,受试者是人。

[0684] 在一些实施方案中,特别是涉及本发明中关注受试者中针对治疗剂的抗药物抗体(ADA)形成降低的方面,受试者罹患局部晚期和/或转移性实体瘤且在标准护理疗法上进展或对标准护理疗法不耐受。在一个实施方案中,肿瘤是表达CEA的肿瘤。在另一个实施方案

中,肿瘤是表达FAP的肿瘤。肿瘤中CEA和/或FAP的表达可以例如通过取自受试者的肿瘤活检的免疫组织化学分析来测定。

[0685] 在其它实施方案中,特别是涉及本发明中关注受试者中与治疗剂的施用相关的细胞因子释放降低的方面,受试者罹患B细胞增殖性病症,特别是非霍奇金淋巴瘤(NHL),急性淋巴细胞性白血病(ALL),慢性淋巴细胞性白血病(CLL),弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL),滤泡性淋巴瘤(FL),套细胞淋巴瘤(MCL),边缘区淋巴瘤(MZL),多发性骨髓瘤(MM)或霍奇金淋巴瘤(HL)。在一个实施方案中,受试者罹患复发性/顽固性(r/r)NHL。

[0686] II型抗CD20抗体的施用

[0687] 依照本发明,选择II型抗CD20抗体的施用和治疗剂的施用之间的时间段和II型抗CD20抗体的剂量,诸如有效降低施用治疗剂前受试者中的B细胞数目。

[0688] 可以通过任何合适的手段(包括胃肠外,肺内,和鼻内,及若期望用于局部治疗的话,损伤内施用)来施用II型抗CD20抗体。胃肠外输注包括肌肉内,静脉内,动脉内,腹膜内,或皮下施用。部分根据施用是短暂的还是长期的,剂量给药可以通过任何合适的路径(例如通过注射,诸如静脉内或皮下注射)来进行。本文中涵盖各种剂量给药日程表,包括但不限于单次施用或在多个时间点里的多次施用,推注施用,和脉冲输注。在一个实施方案中,胃肠外,特别是静脉内,例如通过静脉内输注来施用II型抗CD20抗体。

[0689] II型抗CD20抗体会以一种符合优秀的医学实践的方式配制,定剂量和施用。在此背景中考虑的因素包括所治疗的特定病症,所治疗的特定哺乳动物,患者个体的临床状况,病症的起因,药剂投递部位,施用方法,施用日程表及医学从业人员知道的其它因素。

[0690] 在一个实施方案中,II型抗CD20抗体的施用是一次施用。在另一个实施方案中,II型抗CD20抗体的施用是两次或更多次分开施用。在一个实施方案中,两次或更多次分开施用是在连续两天或更多天上。在一个实施方案中,在施用治疗剂之前或之后没有对受试者进行别的II型抗CD20抗体的施用。在一个实施方案中,II型抗CD20抗体的施用是一次施用,或连续两天上的两次施用,且没有进行别的II型抗CD20抗体的施用。在一个实施方案中,时间段是II型抗CD20抗体的最后一次施用和治疗剂的(第一次,如果数次的话)施用之间的。

[0691] 在一个实施方案中,II型抗CD20抗体的施用是有效减少受试者中的B细胞的II型抗CD20抗体的剂量。在一个实施方案中,II型抗CD20抗体的剂量在II型抗CD20抗体的施用和治疗剂的施用之间的时间段内有效减少受试者中B细胞的数目。在一个实施方案中,II型抗CD20抗体的施用和治疗剂的施用之间的时间段和所施用的II型抗CD20抗体的剂量足以响应II型抗CD20抗体的施用而减少受试者中B细胞的数目。

[0692] 在一个实施方案中,II型抗CD20抗体的施用是约2g II型抗CD20抗体的剂量。约2g II型抗CD20抗体的剂量可以作为约2g的一次施用,或作为数此施用,例如每次约1g的两次施用或例如100mg,900mg和1000mg的三次施用施用于受试者。在一个实施方案中,对受试者进行约2g II型抗CD20抗体的一次施用。在另一个实施方案中,在连续两天上对受试者进行每次约1g II型抗CD20抗体的两次施用。在仍有另一个实施方案中,在连续三天上对受试者进行(i)约100mg II型抗CD20抗体,(ii)约900mg II型抗CD20抗体,和(iii)约1000mg II型抗CD20抗体的三次施用((i)至(iii))。在一个实施方案中,在施用治疗剂前10天至15天的连续两天上对受试者进行约1g II型抗CD20抗体的两次施用。在一个实施方案中,在施用治疗剂前10天至15天对受试者进行约2g II型抗CD20抗体的一次施用。在一个实施方案中,没

有对受试者进行别的II型抗CD20抗体的施用。在一个实施方案中,在II型抗CD20抗体的施用之前(至少在同一治疗过程内)没有对受试者进行治疗剂的施用。

[0693] 在一个实施方案中,II型抗CD20抗体的施用是约1000mg II型抗CD20抗体的剂量。约1000mg II型抗CD20抗体的剂量可以作为约1000mg的一次施用,或数次施用,例如每次约500mg的两次施用施用于受试者。在一个特定的实施方案中,对受试者进行约1000mg II型抗CD20抗体的一次施用。在另一个实施方案中,在连续两天上对受试者进行每次约500mg II型抗CD20抗体的两次施用。在一个实施方案中,在施用治疗剂前7天对受试者进行约1000mg II型抗CD20抗体的一次施用。在一个实施方案中,没有对受试者进行别的II型抗CD20抗体的施用。在一个实施方案中,在II型抗CD20抗体的施用之前(至少在同一治疗过程内)没有对受试者进行治疗剂的施用。

[0694] 在一个实施方案中,治疗方案进一步包含在施用II型抗CD20抗体之前施用预药疗。在一个实施方案中,预药疗包含皮质类固醇(诸如例如泼尼松龙,地塞米松,或甲泼尼龙),扑热息痛/醋氨酚,和/或抗组胺药(诸如例如苯海拉明)。在一个实施方案中,在施用II型抗CD20抗体之前至少60分钟施用预药疗。

[0695] 在一个实施方案中,治疗方案不包含在施用治疗剂之前施用除II型抗CD20抗体以外的免疫抑制剂(和任选的上文所述预药疗)。在一个实施方案中,治疗方案不包含在施用治疗剂之前施用选自甲氨蝶呤,咪唑硫嘌呤,6-巯基嘌呤,来氟米特,环孢霉素,他克莫司/FK506,霉酚酸吗乙酯和霉酚酸钠的组的药剂。在一个实施方案中,治疗方案不包含在施用治疗剂之前施用除II型抗CD20抗体以外的别的抗体。

[0696] 治疗剂的施用

[0697] 可以通过任何合适的手段(包括胃肠外,肺内,和鼻内,及若期望用于局部治疗的话,损伤内施用)来施用治疗剂。然而,本发明的方法在涉及通过胃肠外,特别是静脉内输注来施用治疗剂时特别有用。胃肠外输注包括肌肉内,静脉内,动脉内,腹膜内,或皮下施用。部分根据施用是短暂的还是长期的,剂量给药可以通过任何合适的路径(例如通过注射,诸如静脉内或皮下注射)来进行。本文中涵盖各种剂量给药日程表,包括但不限于单次施用或在多个时间点里的多次施用,推注施用,和脉冲输注。在一个实施方案中,胃肠外,特别是静脉内施用治疗剂。在一个特定实施方案中,通过静脉内输注来施用治疗剂。

[0698] 治疗剂会以一种符合优秀的医学实践的方式配制,定剂量和施用。在此背景中考虑的因素包括所治疗的特定病症,所治疗的特定哺乳动物,患者个体的临床状况,病症的起因,药剂投递部位,施用方法,施用日程表及医学从业人员知道的其它因素。治疗剂无需但任选与一种或多种目前用于预防或治疗所讨论病症的药剂一起配制。此类其它药物的有效量取决于配制剂中存在的治疗剂的量,病症或治疗的类型,及上文所述其它因素。这些通常以本文所述相同的剂量和施用途径使用,或以约1-99%的本文所述剂量使用,或以凭经验/临床上确定为适宜的任何剂量和任何途径使用。

[0699] 为了预防或治疗疾病,治疗剂(当单独或与一种或多种其它别的治疗剂组合使用时)的适宜剂量会取决于要治疗的疾病的类型,治疗剂的类型,疾病的严重性和病程,施用治疗剂是预防还是治疗目的,之前的疗法,患者的临床史和对治疗剂的响应,及主治医师的斟酌。治疗剂适合于在一次或一系列的治疗中施用于患者。根据疾病的类型和严重程度,约1 μ g/kg至15mg/kg(例如0.1mg/kg-10mg/kg)的治疗剂可以是施用于受试者的初始候选剂

量,例如无论是通过一次或多次分开施用,或者是通过连续输注。根据上文所述因素,一个典型的日剂量可以在约1 μ g/kg至100mg/kg或更多的范围内。对于数天或更长时间上的重复施用,根据状况,治疗通常会持续直至疾病症状发生期望的阻抑。治疗剂的一种例示性剂量会在约0.05mg/kg至约10mg/kg的范围中。如此,可以将一剂或多剂约0.5mg/kg,2.0mg/kg,4.0mg/kg,或10mg/kg(或其任意组合)施用于受试者。此类剂量可间歇施用,例如每周,每两周,或每三周(例如使得受试者接受约2至约20剂,或例如约6剂治疗剂)。可以施用较高的初始加载剂,接着是较低的一或多剂,或者较低的初始加载剂,接着是较高的一或多剂。一种例示性剂量给药方案包含施用约10mg的初始剂量,接着是约20mg治疗剂的每两周剂量。然而,其它剂量方案可能是有用的。此疗法的进展易于通过常规技术和测定法来监测。

[0700] 在一个实施方案中,治疗剂的施用是一次施用。在某些实施方案中,治疗剂的施用是两次或更多次施用。在一个此类实施方案中,每周,每两周,或每三周,特别是每两周施用治疗剂。在一个实施方案中,以治疗有效量施用治疗剂。在一个实施方案中,以10mg-20mg的剂量施用治疗剂。在一个实施方案中,治疗剂的施用包含约10mg治疗剂的剂量的初始施用,和约20mg治疗剂的剂量的一次或多次后续施用。在一个实施方案中,以约50 μ g/kg,约100 μ g/kg,约200 μ g/kg,约300 μ g/kg,约400 μ g/kg,约500 μ g/kg,约600 μ g/kg,约700 μ g/kg,约800 μ g/kg,约900 μ g/kg或约1000 μ g/kg的剂量施用治疗剂。在一个实施方案中,以比不施用II型抗CD20抗体的相应治疗方案中治疗剂的剂量要高的剂量施用治疗剂。在一个实施方案中,治疗剂的施用包含治疗剂第一剂剂量的初始施用,和治疗剂第二剂量的一次或多次后续施用,其中第二剂量比第一剂量高。在一个实施方案中,治疗剂的施用包含治疗剂第一剂量的初始施用,和治疗剂第二剂量的一次或多次后续施用,其中第一剂量并不比第二剂量低。

[0701] 在一个实施方案中,依照本发明的治疗方案中治疗剂的施用是治疗剂第一次施用于受试者(至少在同一治疗过程内)。在一个实施方案中,在施用II型抗CD20抗体之前没有对受试者进行治疗剂的施用。

[0702] 在本发明中,治疗剂可以在疗法中单独或与其它药剂组合使用。例如,治疗剂可以与至少一种另外的治疗剂共施用。在某些实施方案中,另外的治疗剂是免疫治疗剂。在一些实施方案中,另外的治疗剂包含本文中关于治疗剂描述的药剂。本发明关于当在不施用II型抗CD20抗体的治疗方案中使用时可受试者中诱导ADA形成或细胞因子释放的数种治疗剂的组合特别有用。此类组合可包括本文中描述的各种治疗剂,而且可以特别包括一种或多种免疫治疗剂,例如用于治疗癌症(癌症免疫疗法)。

[0703] 上文记载的此类组合疗法涵盖组合施用(其中同一配制剂或分开的配制剂中包括两种或更多种治疗剂)和分开施用(在该情况中,治疗剂的施用可在一种或多种另外的治疗剂的施用之前,同时,和/或之后发生)。在一个实施方案中,治疗剂的施用和另外的治疗剂的施用彼此在约一个月,或约1,2或3周,或约1,2,3,4,5,或6天内发生。

[0704] 制品

[0705] 在本发明的另一个方面,如本文中描述的,提供含有可用于治疗,预防和/或诊断病症,或降低抗药物抗体(ADA)形成和/或降低细胞因子释放的材料的制品,例如试剂盒。所述制品包含容器和容器上或与容器联合的标签或包装插页。合适的容器包括,例如瓶,管形瓶,注射器,IV溶液袋等。所述容器可从多种材料如玻璃或塑料形成。所述容器容纳组合物,其自身或与其它组合物组合对于治疗,预防和/或诊断状况是有效的,或容纳对于降低ADA

形成和/或细胞因子释放有效的组合物,并且可以具有无菌的存取口(例如,容器可以是具有由皮下注射针可穿过的塞子的静脉内溶液袋或管形瓶)。组合物中至少一种活性剂是本文中描述的II型抗CD20抗体或治疗剂。标签或包装插页指示该组合物用于治疗选择的状况和/或降低ADA形成和/或细胞因子释放。此外,所述制品可以包含(a)其中含有组合物的第一容器,其中所述组合物包含本文中描述的II型抗CD20抗体;和(b)其中含有组合物的第二容器,其中所述组合物包含本文中描述的治疗剂。本发明的这一实施方案中的制品还可以包含包装插页,其指示该组合物可用于治疗特定状况和/或降低ADA形成和/或细胞因子释放。或者/另外地,所述制品还可以包含第二(或第三)容器,其包含药学可接受的缓冲液,诸如抑菌性注射用水(BWFI),磷酸盐缓冲盐水,林格(Ringer)氏溶液和右旋糖溶液。它还可以包含从商业和用户观点看期望的其它材料,包括其它缓冲液,稀释剂,滤器,针,和注射器。

[0706] 实施方案

[0707] 下面列出了本发明的一些实施方案。

[0708] 1. 一种在受试者中治疗疾病的方法,该方法包含包括下述的治疗方案:

[0709] (i) 对该受试者施用II型抗CD20抗体,

[0710] 并且序贯地在一段时间后

[0711] (ii) 对该受试者施用治疗剂,

[0712] 其中该II型抗CD20抗体的施用和治疗剂的施用之间的时间段足以响应该II型抗CD20抗体的施用而降低该受试者中的B细胞的数量。

[0713] 2. 实施方案1的方法,其中与不施用该II型抗CD20抗体的相应治疗方案相比该治疗方案有效降低该受试者中响应该治疗剂的施用而发生的抗药物抗体(ADA)形成。

[0714] 3. 一种用于在受试者中降低针对治疗剂的抗药物抗体(ADA)形成的方法,该方法包括在施用该治疗剂之前将II型抗CD20抗体施用于该受试者。

[0715] 4. 实施方案3的方法,其中该II型抗CD20抗体的施用和治疗剂的施用之间的时间段足以响应该II型抗CD20抗体的施用而降低该受试者中的B细胞的数量。

[0716] 5. 前述实施方案中任一项的方法,其中该II型抗CD20抗体包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:4的重链CDR(HCDR)1,SEQ ID NO:5的HCDR2,和SEQ ID NO:6的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:7的轻链CDR(LCDR)1,SEQ ID NO:8的LCDR2和SEQ ID NO:9的LCDR3。

[0717] 6. 前述实施方案中任一项的方法,其中该II型抗CD20抗体包含SEQ ID NO:10的重链可变区序列和SEQ ID NO:11的轻链可变区序列。

[0718] 7. 前述实施方案中任一项的方法,其中该II型抗CD20抗体是IgG抗体,特别是IgG1抗体。

[0719] 8. 前述实施方案中任一项的方法,其中该II型抗CD20抗体改造成具有Fc区中与未改造的抗体相比比例升高的非岩藻糖基化的寡糖。

[0720] 9. 前述实施方案中任一项的方法,其中该II型抗CD20抗体的Fc区中至少约40%的N连接的寡糖是非岩藻糖基化的。

[0721] 10. 前述实施方案中任一项的方法,其中该II型抗CD20抗体是obinutuzumab。

[0722] 11. 前述实施方案中任一项的方法,其中该治疗剂包含多肽。

[0723] 12. 前述实施方案中任一项的方法,其中该治疗剂包含抗体。

- [0724] 13. 实施方案12的方法, 其中该治疗剂中包含的抗体特异性结合癌胚抗原 (CEA)。
- [0725] 14. 实施方案13的方法, 其中该治疗剂中包含的抗体包含重链可变区, 该重链可变区包含SEQ ID NO:14的重链CDR (HCDR) 1, SEQ ID NO:15的HCDR2, 和SEQ ID NO:16的HCDR3; 和轻链可变区, 该轻链可变区包含SEQ ID NO:17的轻链CDR (LCDR) 1, SEQ ID NO:18的LCDR2 和SEQ ID NO:19的LCDR3。
- [0726] 15. 实施方案13或14的方法, 其中该治疗剂中包含的抗体包含SEQ ID NO:20的重链可变区序列和SEQ ID NO:21的轻链可变区序列。
- [0727] 16. 实施方案12的方法, 其中该治疗剂中包含的抗体特异性结合CD3, 特别是CD3 ϵ 。
- [0728] 17. 实施方案16的方法, 其中该治疗剂中包含的抗体包含重链可变区, 该重链可变区包含SEQ ID NO:32的重链CDR (HCDR) 1, SEQ ID NO:33的HCDR2, 和SEQ ID NO:34的HCDR3; 和轻链可变区, 该轻链可变区包含SEQ ID NO:35的轻链CDR (LCDR) 1, SEQ ID NO:36的LCDR2 和SEQ ID NO:37的LCDR3。
- [0729] 18. 实施方案16或17的方法, 其中该治疗剂中包含的抗体包含SEQ ID NO:38的重链可变区序列和SEQ ID NO:39的轻链可变区序列。
- [0730] 19. 实施方案1至18中任一项的方法, 其中该治疗剂包含细胞因子。
- [0731] 20. 实施方案19的方法, 其中该细胞因子是白介素-2 (IL-2)。
- [0732] 21. 实施方案19或20的方法, 其中该细胞因子是包含氨基酸替代F42A, Y45A和L72G (编号方式相对于人IL-2序列SEQ ID NO:12) 的突变型人IL-2多肽。
- [0733] 22. 前述实施方案中任一项的方法, 其中该治疗剂包含免疫缀合物。
- [0734] 23. 实施方案22的方法, 其中该免疫缀合物包含实施方案13至15中任一项中定义的抗体, 和实施方案20或21中定义的细胞因子。
- [0735] 24. 前述实施方案中任一项的方法, 其中该治疗剂包含cergutuzumab amunaleukin (CEA-IL2v)。
- [0736] 25. 实施方案1至18中任一项的方法, 其中该治疗剂包含双特异性抗体, 该双特异性抗体包含实施方案13至15中任一项中定义的抗体和实施方案16至18中任一项中定义的抗体。
- [0737] 26. 一种II型抗CD20抗体, 其用于一种在受试者中治疗疾病的方法, 该方法包含包括下述的治疗方案:
- [0738] (i) 对该受试者施用该II型抗CD20抗体,
- [0739] 并且序贯地在一段时间后
- [0740] (ii) 对该受试者施用治疗剂,
- [0741] 其中该II型抗CD20抗体的施用和该治疗剂的施用之间的时间段足以响应该II型抗CD20抗体的施用而降低该受试者中的B细胞的数量。
- [0742] 27. 实施方案26的II型抗CD20抗体, 其中与不施用该II型抗CD20抗体的相应治疗方案相比该治疗方案有效降低该受试者中响应该治疗剂的施用而发生的抗药物抗体 (ADA) 形成。
- [0743] 28. 一种II型抗CD20抗体, 其用于一种用于在受试者中降低针对治疗剂的抗药物抗体 (ADA) 形成的方法, 该方法包括在施用该治疗剂之前将该II型抗CD20抗体施用于该受试者。

- [0744] 29. 实施方案28的II型抗CD20抗体,其中该II型抗CD20抗体的施用和该治疗剂的施用之间的时间段足以响应该II型抗CD20抗体的施用而降低该受试者中的B细胞的数量。
- [0745] 30. 实施方案26至29中任一项的II型抗CD20抗体,其中该II型抗CD20抗体包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:4的重链CDR (HCDR) 1,SEQ ID NO:5的HCDR2,和SEQ ID NO:6的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:7的轻链CDR (LCDR) 1,SEQ ID NO:8的LCDR2和SEQ ID NO:9的LCDR3。
- [0746] 31. 实施方案26至30中任一项的II型抗CD20抗体,其中该II型抗CD20抗体包含SEQ ID NO:10的重链可变区序列和SEQ ID NO:11的轻链可变区序列。
- [0747] 32. 实施方案26至31中任一项的II型抗CD20抗体,其中该II型抗CD20抗体是IgG抗体,特别是IgG1抗体。
- [0748] 33. 实施方案26至32中任一项的II型抗CD20抗体,其中该II型抗CD20抗体改造成具有Fc区中与未改造的抗体相比比例升高的非岩藻糖基化的寡糖。
- [0749] 34. 实施方案26至33中任一项的II型抗CD20抗体,其中该抗CD20抗体的Fc区中至少约40%的N连接的寡糖是非岩藻糖基化的。
- [0750] 35. 实施方案26至34中任一项的II型抗CD20抗体,其中该II型抗CD20抗体是obinutuzumab。
- [0751] 36. 实施方案26至35中任一项的II型抗CD20抗体,其中该治疗剂包含多肽。
- [0752] 37. 实施方案26至36中任一项的II型抗CD20抗体,其中该治疗剂包含抗体。
- [0753] 38. 实施方案37的II型抗CD20抗体,其中该治疗剂中包含的抗体特异性结合癌胚抗原 (CEA)。
- [0754] 39. 实施方案38的II型抗CD20抗体,其中该治疗剂中包含的抗体包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:14的重链CDR (HCDR) 1,SEQ ID NO:15的HCDR2,和SEQ ID NO:16的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:17的轻链CDR (LCDR) 1,SEQ ID NO:18的LCDR2和SEQ ID NO:19的LCDR3。
- [0755] 40. 实施方案38或39的II型抗CD20抗体,其中该治疗剂中包含的抗体包含SEQ ID NO:20的重链可变区序列和SEQ ID NO:21的轻链可变区序列。
- [0756] 41. 实施方案37的II型抗CD20抗体,其中该治疗剂中包含的抗体特异性结合CD3,特别是CD3 ϵ 。
- [0757] 42. 实施方案41的II型抗CD20抗体,其中该治疗剂中包含的抗体包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:32的重链CDR (HCDR) 1,SEQ ID NO:33的HCDR2,和SEQ ID NO:34的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:35的轻链CDR (LCDR) 1,SEQ ID NO:36的LCDR2和SEQ ID NO:37的LCDR3。
- [0758] 43. 实施方案41或42的II型抗CD20抗体,其中该治疗剂中包含的抗体包含SEQ ID NO:38的重链可变区序列和SEQ ID NO:39的轻链可变区序列。
- [0759] 44. 实施方案26至43中任一项的II型抗CD20抗体,其中该治疗剂包含细胞因子。
- [0760] 45. 实施方案44的II型抗CD20抗体,其中该细胞因子是白介素-2 (IL-2)。
- [0761] 46. 实施方案44或45的II型抗CD20抗体,其中该细胞因子是包含氨基酸替代F42A, Y45A和L72G (编号方式相对于人IL-2序列SEQ ID NO:12)的突变型人IL-2多肽。
- [0762] 47. 实施方案26至46中任一项的II型抗CD20抗体,其中该治疗剂包含免疫缀合物。

[0763] 48. 实施方案47的II型抗CD20抗体,其中该免疫缀合物包含实施方案38至40中任一项中定义的抗体和实施方案45或46中定义的细胞因子。

[0764] 49. 实施方案26至48中任一项的II型抗CD20抗体,其中该治疗剂包含 cergutuzumab amunaleukin (CEA-IL2v)。

[0765] 50. 实施方案1至43中任一项的II型抗CD20抗体,其中该治疗剂包含双特异性抗体,该双特异性抗体包含实施方案38至40中任一项中定义的抗体和实施方案41至43中任一项中定义的抗体。

[0766] 51. II型抗CD20抗体在制造用于在受试者中降低针对治疗剂的抗药物抗体 (ADA) 形成的药物中的用途,

[0767] 其中该药物要用于包括下述的治疗方案:

[0768] (i) 对该受试者施用该II型抗CD20抗体,

[0769] 并且序贯地在一段时间后

[0770] (ii) 对该受试者施用治疗剂,

[0771] 其中该II型抗CD20抗体的施用和治疗剂的施用之间的时间段足以响应该II型抗CD20抗体的施用而降低该受试者中的B细胞的数量。

[0772] 52. 治疗剂在制造用于在受试者中治疗疾病的药物中的用途,其中该治疗剂包括下述的治疗方案:

[0773] (i) 对该受试者施用II型抗CD20抗体,

[0774] 并且序贯地在一段时间后

[0775] (ii) 对该受试者施用该治疗剂,

[0776] 其中该II型抗CD20抗体的施用和治疗剂的施用之间的时间段足以响应该II型抗CD20抗体的施用而降低该受试者中的B细胞的数量。

[0777] 53. 实施方案51或52的用途,其中与不施用该II型抗CD20抗体的相应治疗方案相比该治疗方案有效降低该受试者中针对该治疗剂的抗药物抗体 (ADA) 形成。

[0778] 54. 实施方案51至53中任一项的用途,其中该II型抗CD20抗体包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:4的重链CDR (HCDR) 1,SEQ ID NO:5的HCDR2,和SEQ ID NO:6的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:7的轻链CDR (LCDR) 1,SEQ ID NO:8的LCDR2和SEQ ID NO:9的LCDR3。

[0779] 55. 实施方案51至54中任一项的用途,其中该II型抗CD20抗体包含SEQ ID NO:10的重链可变区序列和SEQ ID NO:11的轻链可变区序列。

[0780] 56. 实施方案51至55中任一项的用途,其中该II型抗CD20抗体是IgG抗体,特别是IgG1抗体。

[0781] 57. 实施方案51至56中任一项的用途,其中该II型抗CD20抗体改造成具有Fc区中与未改造的抗体相比比例升高的非岩藻糖基化的寡糖。

[0782] 58. 实施方案51至57中任一项的用途,其中该II型抗CD20抗体的Fc区中至少约40%的N连接的寡糖是非岩藻糖基化的。

[0783] 59. 实施方案51至58中任一项的用途,其中该II型抗CD20抗体是obinutuzumab。

[0784] 60. 实施方案51至59中任一项的用途,其中该治疗剂包含多肽。

[0785] 61. 实施方案51至60中任一项的用途,其中该治疗剂包含抗体。

- [0786] 62. 实施方案61的用途, 其中该治疗剂中包含的抗体特异性结合癌胚抗原 (CEA)。
- [0787] 63. 实施方案62的用途, 其中该治疗剂中包含的抗体包含重链可变区, 该重链可变区包含SEQ ID NO:14的重链CDR (HCDR) 1, SEQ ID NO:15的HCDR2, 和SEQ ID NO:16的HCDR3; 和轻链可变区, 该轻链可变区包含SEQ ID NO:17的轻链CDR (LCDR) 1, SEQ ID NO:18的LCDR2 和SEQ ID NO:19的LCDR3。
- [0788] 64. 实施方案62或63的用途, 其中该治疗剂中包含的抗体包含SEQ ID NO:20的重链可变区序列和SEQ ID NO:21的轻链可变区序列。
- [0789] 65. 实施方案61的用途, 其中该治疗剂中包含的抗体特异性结合CD3, 特别是CD3 ϵ 。
- [0790] 66. 实施方案65的用途, 其中该治疗剂中包含的抗体包含重链可变区, 该重链可变区包含SEQ ID NO:32的重链CDR (HCDR) 1, SEQ ID NO:33的HCDR2, 和SEQ ID NO:34的HCDR3; 和轻链可变区, 该轻链可变区包含SEQ ID NO:35的轻链CDR (LCDR) 1, SEQ ID NO:36的LCDR2 和SEQ ID NO:37的LCDR3。
- [0791] 67. 实施方案65或66的用途, 其中该治疗剂中包含的抗体包含SEQ ID NO:38的重链可变区序列和SEQ ID NO:39的轻链可变区序列。
- [0792] 68. 实施方案51至67中任一项的用途, 其中该治疗剂包含细胞因子。
- [0793] 69. 实施方案68的用途, 其中该细胞因子是白介素-2 (IL-2)。
- [0794] 70. 实施方案68或69的用途, 其中该细胞因子是包含氨基酸替代F42A, Y45A和L72G (编号方式相对于人IL-2序列SEQ ID NO:12) 的突变型人IL-2多肽。
- [0795] 71. 实施方案51至70中任一项的用途, 其中该治疗剂包含免疫缀合物。
- [0796] 72. 实施方案71的用途, 其中该免疫缀合物包含实施方案62至64中任一项中定义的抗体和实施方案69或70中定义的细胞因子。
- [0797] 73. 实施方案51至72中任一项的用途, 其中该治疗剂包含cergutuzumab amunaleukin (CEA-IL2v)。
- [0798] 74. 实施方案51至67中任一项的用途, 其中该治疗剂包含双特异性抗体, 该双特异性抗体包含实施方案62至64中任一项中定义的抗体和实施方案65至67中任一项中定义的抗体。
- [0799] 75. 一种用于在受试者中降低针对治疗剂的抗药物抗体 (ADA) 形成的试剂盒, 其包含包装, 该包装包含II型抗CD20抗体组合物和关于在包括下述的治疗方案中使用该II型抗CD20抗体组合物的用法说明书:
- [0800] (iii) 对该受试者施用该II型抗CD20抗体组合物,
- [0801] 并且序贯地在一段时间后
- [0802] (iv) 对该受试者施用治疗剂,
- [0803] 其中该II型抗CD20抗体组合物的施用和治疗剂的施用之间的时间段足以响应该II型抗CD20抗体的施用而降低该受试者中的B细胞的数量。
- [0804] 76. 实施方案75的试剂盒, 其进一步包含治疗剂组合物。
- [0805] 77. 一种用于在受试者中治疗疾病的试剂盒, 其包含包装, 该包装包含治疗剂组合物和关于在包括下述的治疗方案中使用该治疗剂组合物的用法说明书:
- [0806] (iii) 对该受试者施用II型抗CD20抗体,
- [0807] 并且序贯地在一段时间后

- [0808] (iv) 对该受试者施用该治疗剂组合物,
- [0809] 其中该II型抗CD20抗体的施用和该治疗剂组合物的施用之间的时间段足以响应该II型抗CD20抗体的施用而降低该受试者中的B细胞的数量。
- [0810] 78. 实施方案77的试剂盒,其进一步包含II型抗CD20抗体组合物。
- [0811] 79. 实施方案75至78中任一项的试剂盒,其中与不施用该II型抗CD20抗体组合物的相应治疗方案相比该治疗方案有效降低该受试者中针对该治疗剂的抗药物抗体(ADA)形成。
- [0812] 80. 实施方案75至79中任一项的试剂盒,其中该II型抗CD20抗体包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:4的重链CDR(HCDR)1,SEQ ID NO:5的HCDR2,和SEQ ID NO:6的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:7的轻链CDR(LCDR)1,SEQ ID NO:8的LCDR2和SEQ ID NO:9的LCDR3。
- [0813] 81. 实施方案75至80中任一项的试剂盒,其中该II型抗CD20抗体包含SEQ ID NO:10的重链可变区序列和SEQ ID NO:11的轻链可变区序列。
- [0814] 82. 实施方案75至81中任一项的试剂盒,其中该II型抗CD20抗体是IgG抗体,特别是IgG1抗体。
- [0815] 83. 实施方案75至82中任一项的试剂盒,其中该II型抗CD20抗体改造成具有Fc区中与未改造的抗体相比比例升高的非岩藻糖基化的寡糖。
- [0816] 84. 实施方案75至83中任一项的试剂盒,其中该II型抗CD20抗体的Fc区中至少约40%的N连接的寡糖是非岩藻糖基化的。
- [0817] 85. 实施方案75至84中任一项的试剂盒,其中该II型抗CD20抗体是obinutuzumab。
- [0818] 86. 实施方案75至85中任一项的试剂盒,其中该治疗剂包含多肽。
- [0819] 87. 实施方案75至86中任一项的试剂盒,其中该治疗剂包含抗体。
- [0820] 88. 实施方案87的试剂盒,其中该治疗剂中包含的抗体特异性结合癌胚抗原(CEA)。
- [0821] 89. 实施方案88的试剂盒,其中该治疗剂中包含的抗体包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:14的重链CDR(HCDR)1,SEQ ID NO:15的HCDR2,和SEQ ID NO:16的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:17的轻链CDR(LCDR)1,SEQ ID NO:18的LCDR2和SEQ ID NO:19的LCDR3。
- [0822] 90. 实施方案88或89的试剂盒,其中该治疗剂中包含的抗体包含SEQ ID NO:20的重链可变区序列和SEQ ID NO:21的轻链可变区序列。
- [0823] 91. 实施方案87的试剂盒,其中该治疗剂中包含的抗体特异性结合CD3,特别是CD3 ϵ 。
- [0824] 92. 实施方案91的试剂盒,其中该治疗剂中包含的抗体包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:32的重链CDR(HCDR)1,SEQ ID NO:33的HCDR2,和SEQ ID NO:34的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:35的轻链CDR(LCDR)1,SEQ ID NO:36的LCDR2和SEQ ID NO:37的LCDR3。
- [0825] 93. 实施方案91或92的试剂盒,其中该治疗剂中包含的抗体包含SEQ ID NO:38的重链可变区序列和SEQ ID NO:39的轻链可变区序列。
- [0826] 94. 实施方案75至93中任一项的试剂盒,其中该治疗剂包含细胞因子。

- [0827] 95. 实施方案94的试剂盒, 其中该细胞因子是白介素-2 (IL-2)。
- [0828] 96. 实施方案94或95的试剂盒, 其中该细胞因子是包含氨基酸替代F42A, Y45A和L72G (编号方式相对于人IL-2序列SEQ ID NO:12) 的突变型人IL-2多肽。
- [0829] 97. 实施方案75至96中任一项的试剂盒, 其中该治疗剂包含免疫缀合物。
- [0830] 98. 实施方案97的试剂盒, 其中该免疫缀合物包含实施方案88至90中任一项中定义的抗体和实施方案95或96中定义的细胞因子。
- [0831] 99. 实施方案75至98中任一项的试剂盒, 其中该治疗剂包含cergutuzumab amunaleukin (CEA-IL2v)。
- [0832] 100. 实施方案75至93中任一项的试剂盒, 其中该治疗剂包含双特异性抗体, 该双特异性抗体包含实施方案88至90中任一项中定义的抗体和实施方案91至93中任一项中定义的抗体。
- [0833] 101. 一种治疗剂, 其用于一种在受试者中治疗疾病的方法, 该方法包含包括下述的治疗方案:
- [0834] (i) 对该受试者施用II型抗CD20抗体,
- [0835] 并且序贯地在一段时间后
- [0836] (ii) 对该受试者施用该治疗剂,
- [0837] 其中该II型抗CD20抗体的施用和该治疗剂的施用之间的时间段足以响应该II型抗CD20抗体的施用而降低该受试者中的B细胞的数目。
- [0838] 102. 实施方案101的治疗剂, 其中与不施用该II型抗CD20抗体的相应治疗方案相比该治疗方案有效降低该受试者中响应该治疗剂的施用而发生的抗药物抗体 (ADA) 形成。
- [0839] 103. 实施方案101或102的治疗剂, 其中该II型抗CD20抗体包含重链可变区, 该重链可变区包含SEQ ID NO:4的重链CDR (HCDR) 1, SEQ ID NO:5的HCDR2, 和SEQ ID NO:6的HCDR3; 和轻链可变区, 该轻链可变区包含SEQ ID NO:7的轻链CDR (LCDR) 1, SEQ ID NO:8的LCDR2和SEQ ID NO:9的LCDR3。
- [0840] 104. 实施方案101至103中任一项的治疗剂, 其中该II型抗CD20抗体包含SEQ ID NO:10的重链可变区序列和SEQ ID NO:11的轻链可变区序列。
- [0841] 105. 实施方案101至104中任一项的治疗剂, 其中该II型抗CD20抗体是IgG抗体, 特别是IgG1抗体。
- [0842] 106. 实施方案101至105中任一项的治疗剂, 其中该II型抗CD20抗体改造成具有Fc区中与未改造的抗体相比比例升高的非岩藻糖基化的寡糖。
- [0843] 107. 实施方案101至106中任一项的治疗剂, 其中该II型抗CD20抗体的Fc区中至少约40%的N连接的寡糖是非岩藻糖基化的。
- [0844] 108. 实施方案101至107中任一项的治疗剂, 其中该II型抗CD20抗体是obinutuzumab。
- [0845] 109. 实施方案101至108中任一项的治疗剂, 其中该治疗剂包含多肽。
- [0846] 110. 实施方案101至109中任一项的治疗剂, 其中该治疗剂包含抗体。
- [0847] 111. 实施方案110的治疗剂, 其中该治疗剂中包含的抗体特异性结合癌胚抗原 (CEA)。
- [0848] 112. 实施方案111的治疗剂, 其中该治疗剂中包含的抗体包含重链可变区, 该重链

可变区包含SEQ ID NO:14的重链CDR (HCDR) 1,SEQ ID NO:15的HCDR2,和SEQ ID NO:16的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:17的轻链CDR (LCDR) 1,SEQ ID NO:18的LCDR2和SEQ ID NO:19的LCDR3。

[0849] 113.实施方案110或111的治疗剂,其中该治疗剂中包含的抗体包含SEQ ID NO:20的重链可变区序列和SEQ ID NO:21的轻链可变区序列。

[0850] 114.实施方案110的治疗剂,其中该治疗剂中包含的抗体特异性结合CD3,特别是CD3 ϵ 。

[0851] 115.实施方案114的治疗剂,其中该治疗剂中包含的抗体包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:32的重链CDR (HCDR) 1,SEQ ID NO:33的HCDR2,和SEQ ID NO:34的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:35的轻链CDR (LCDR) 1,SEQ ID NO:36的LCDR2和SEQ ID NO:37的LCDR3。

[0852] 116.实施方案114或115的治疗剂,其中该治疗剂中包含的抗体包含SEQ ID NO:38的重链可变区序列和SEQ ID NO:39的轻链可变区序列。

[0853] 117.实施方案101至116中任一项的治疗剂,其中该治疗剂包含细胞因子。

[0854] 118.实施方案117的治疗剂,其中该细胞因子是白介素-2 (IL-2)。

[0855] 119.实施方案117或118的治疗剂,其中该细胞因子是包含氨基酸替代F42A,Y45A和L72G(编号方式相对于人IL-2序列SEQ ID NO:12)的突变型人IL-2多肽。

[0856] 120.实施方案101至119中任一项的治疗剂,其中该治疗剂包含免疫缀合物。

[0857] 121.实施方案120的治疗剂,其中该免疫缀合物包含实施方案111至113中任一项中定义的抗体和实施方案118或119中定义的细胞因子。

[0858] 122.实施方案101至121中任一项的治疗剂,其中该治疗剂包含cergutuzumab amunaleukin (CEA-IL2v)。

[0859] 123.实施方案101至119中任一项的治疗剂,其中该治疗剂包含双特异性抗体,该双特异性抗体包含实施方案111至113中任一项中定义的抗体和实施方案114至116中任一项中定义的抗体。

[0860] 下面列出了本发明的又一些实施方案。

[0861] 1.一种在受试者中治疗疾病的方法,该方法包含包括下述的治疗方案:

[0862] (i) 对该受试者施用II型抗CD20抗体,

[0863] 并且序贯地在一段时间后

[0864] (ii) 对该受试者施用T细胞活化性治疗剂,

[0865] 其中该II型抗CD20抗体的施用和该治疗剂的施用之间的时间段足以响应该CD20抗体的施用而降低该受试者中的B细胞的数量。

[0866] 2.实施方案1的方法,其中与不施用该II型抗CD20抗体的相应治疗方案相比该治疗方案有效降低该受试者中与该治疗剂的施用相关的细胞因子释放。

[0867] 3.一种用于在受试者中降低与治疗剂的施用相关的细胞因子释放的方法,该方法包括在施用治疗剂之前将II型抗CD20抗体施用于该受试者。

[0868] 4.实施方案3的方法,其中该II型抗CD20抗体的施用和该治疗剂的施用之间的时间段足以响应该II型抗CD20抗体的施用而降低该受试者中的B细胞的数量。

[0869] 5.前述实施方案中任一项的方法,其中该II型抗CD20抗体包含重链可变区,该重

链可变区包含SEQ ID NO:4的重链CDR (HCDR) 1,SEQ ID NO:5的HCDR2,和SEQ ID NO:6的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:7的轻链CDR (LCDR) 1,SEQ ID NO:8的LCDR2和SEQ ID NO:9的LCDR3。

[0870] 6.前述实施方案中任一项的方法,其中该II型抗CD20抗体包含SEQ ID NO:10的重链可变区序列和SEQ ID NO:11的轻链可变区序列。

[0871] 7.前述实施方案中任一项的方法,其中该II型抗CD20抗体是IgG抗体,特别是IgG1抗体。

[0872] 8.前述实施方案中任一项的方法,其中该II型抗CD20抗体改造成具有Fc区中与未改造的抗体相比比例升高的非岩藻糖基化的寡糖。

[0873] 9.前述实施方案中任一项的方法,其中该II型抗CD20抗体的Fc区中至少约40%的N连接的寡糖是非岩藻糖基化的。

[0874] 10.前述实施方案中任一项的方法,其中该II型抗CD20抗体是obinutuzumab。

[0875] 11.前述实施方案中任一项的方法,其中该治疗剂包含抗体,特别是多特异性抗体。

[0876] 12.实施方案11的方法,其中该治疗剂中包含的抗体特异性结合活化性T细胞抗原,特别是选自由CD3,CD28,CD137(也称作4-1BB),CD40,CD226,OX40,GITR,CD27,HVEM,和CD127组成的组的抗原,更加特别是CD3,最特别是CD3 ϵ 。

[0877] 13.实施方案11或12的方法,其中该治疗剂中包含的抗体包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:32的重链CDR (HCDR) 1,SEQ ID NO:33的HCDR2,和SEQ ID NO:34的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:35的轻链CDR (LCDR) 1,SEQ ID NO:36的LCDR2和SEQ ID NO:37的LCDR3。

[0878] 14.实施方案11至13中任一项的方法,其中该治疗剂中包含的抗体包含SEQ ID NO:38的重链可变区序列和SEQ ID NO:39的轻链可变区序列。

[0879] 15.实施方案11至14中任一项的方法,其中该治疗剂中包含的抗体特异性结合B细胞抗原,特别是选自由CD20,CD19,CD22,ROR-1,CD37和CD5组成的组的抗原,更加特别是CD20或CD19,最特别是CD20。

[0880] 16.实施方案15的方法,其中该治疗剂中包含的抗体包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:4的重链CDR (HCDR) 1,SEQ ID NO:5的HCDR2,和SEQ ID NO:6的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:7的轻链CDR (LCDR) 1,SEQ ID NO:8的LCDR2和SEQ ID NO:9的LCDR3。

[0881] 17.实施方案15或16的方法,其中该治疗剂中包含的抗体包含SEQ ID NO:10的重链可变区序列和SEQ ID NO:11的轻链可变区序列。

[0882] 18.前述实施方案中任一项的方法,其中该治疗剂中包含的抗体是双特异性抗体,该双特异性抗体包含(i)实施方案12至14中任一项中定义的抗体和(ii)实施方案15至17中任一项中定义的抗体。

[0883] 19.前述实施方案中任一项的方法,其中该治疗剂包含CD20XCD3 bsAB。

[0884] 20.实施方案1至10中任一项的方法,其中该治疗剂包含表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞,特别是特异性结合B细胞抗原的CAR,更加特别是特异性结合选自CD20,CD19,CD22,ROR-1,CD37和CD5的组的抗原的CAR。

[0885] 21. 前述实施方案中任一项的方法, 其中该疾病是B细胞增殖性病症, 特别是CD20阳性B细胞病症, 和/或是选自由非霍奇金淋巴瘤 (NHL), 急性淋巴细胞性白血病 (ALL), 慢性淋巴细胞性白血病 (CLL), 弥漫性大B细胞淋巴瘤 (DLBCL), 滤泡性淋巴瘤 (FL), 套细胞淋巴瘤 (MCL), 边缘区淋巴瘤 (MZL), 多发性骨髓瘤 (MM) 和霍奇金淋巴瘤 (HL) 组成的组的疾病。

[0886] 22. 一种II型抗CD20抗体, 其用于一种在受试者中治疗疾病的方法, 该方法包含包括下述的治疗方案:

[0887] (i) 对该受试者施用该II型抗CD20抗体,

[0888] 并且序贯地在一段时间后

[0889] (ii) 对该受试者施用T细胞活化性治疗剂,

[0890] 其中该II型抗CD20抗体的施用和治疗剂的施用之间的时间段足以响应该II型抗CD20抗体的施用而降低该受试者中的B细胞数目。

[0891] 23. 实施方案22的II型抗CD20抗体, 其中与不施用该II型抗CD20抗体的相应治疗方案相比该治疗方案有效降低该受试者中与该治疗剂的施用相关的细胞因子释放。

[0892] 24. 一种II型抗CD20抗体, 其用于一种用于在受试者中降低与治疗剂的施用相关的细胞因子释放的方法, 该方法包括在施用该治疗剂之前将该II型抗CD20抗体施用于该受试者。

[0893] 25. 实施方案24的II型抗CD20抗体, 其中该II型抗CD20抗体的施用和治疗剂的施用之间的时间段足以响应该II型抗CD20抗体的施用而降低该受试者中的B细胞数目。

[0894] 26. 实施方案22至25中任一项的II型抗CD20抗体, 其中该II型抗CD20抗体包含重链可变区, 该重链可变区包含SEQ ID NO:4的重链CDR (HCDR) 1, SEQ ID NO:5的HCDR2, 和SEQ ID NO:6的HCDR3; 和轻链可变区, 该轻链可变区包含SEQ ID NO:7的轻链CDR (LCDR) 1, SEQ ID NO:8的LCDR2和SEQ ID NO:9的LCDR3。

[0895] 27. 实施方案22至26中任一项的II型抗CD20抗体, 其中该II型抗CD20抗体包含SEQ ID NO:10的重链可变区序列和SEQ ID NO:11的轻链可变区序列。

[0896] 28. 实施方案22至27中任一项的II型抗CD20抗体, 其中该II型抗CD20抗体是IgG抗体, 特别是IgG1抗体。

[0897] 29. 实施方案22至28中任一项的II型抗CD20抗体, 其中该II型抗CD20抗体改造成具有Fc区中与未改造的抗体相比比例升高的非岩藻糖基化的寡糖。

[0898] 30. 实施方案22至29中任一项的II型抗CD20抗体, 其中该II型抗CD20抗体的Fc区中至少约40%的N连接的寡糖是非岩藻糖基化的。

[0899] 31. 实施方案22至30中任一项的II型抗CD20抗体, 其中该II型抗CD20抗体是obinutuzumab。

[0900] 32. 实施方案22至31中任一项的II型抗CD20抗体, 其中该治疗剂包含抗体, 特别是多特异性抗体。

[0901] 33. 实施方案32的II型抗CD20抗体, 其中该治疗剂中包含的抗体特异性结合活化性T细胞抗原, 特别是选自由CD3, CD28, CD137 (也称作4-1BB), CD40, CD226, OX40, GITR, CD27, HVEM, 和CD127组成的组的抗原, 更加特别是CD3, 最特别是CD3 ϵ 。

[0902] 34. 实施方案32或33的II型抗CD20抗体, 其中该治疗剂中包含的抗体包含重链可变区, 该重链可变区包含SEQ ID NO:32的重链CDR (HCDR) 1, SEQ ID NO:33的HCDR2, 和SEQ

ID NO:34的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:35的轻链CDR (LCDR) 1,SEQ ID NO:36的LCDR2和SEQ ID NO:37的LCDR3。

[0903] 35.实施方案32至34中任一项的II型抗CD20抗体,其中该治疗剂中包含的抗体包含SEQ ID NO:38的重链可变区序列和SEQ ID NO:39的轻链可变区序列。

[0904] 36.实施方案32至35中任一项的II型抗CD20抗体,其中该治疗剂中包含的抗体特异性结合B细胞抗原,特别是选自由CD20,CD19,CD22,ROR-1,CD37和CD5组成的组的抗原,更加特别是CD20或CD19,最特别是CD20。

[0905] 37.实施方案36的II型抗CD20抗体,其中该治疗剂中包含的抗体包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:4的重链CDR (HCDR) 1,SEQ ID NO:5的HCDR2,和SEQ ID NO:6的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:7的轻链CDR (LCDR) 1,SEQ ID NO:8的LCDR2和SEQ ID NO:9的LCDR3。

[0906] 38.实施方案36或37的II型抗CD20抗体,其中该治疗剂中包含的抗体包含SEQ ID NO:10的重链可变区序列和SEQ ID NO:11的轻链可变区序列。

[0907] 39.实施方案22至38中任一项的II型抗CD20抗体,其中该治疗剂中包含的抗体是双特异性抗体,该双特异性抗体包含(i)实施方案33至35中任一项中定义的抗体和(ii)实施方案36至38中任一项中定义的抗体。

[0908] 40.实施方案22至39中任一项的II型抗CD20抗体,其中该治疗剂包含CD20XCD3 bsAB。

[0909] 41.实施方案22至31中任一项的II型抗CD20抗体,其中该治疗剂包含表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞,特别是特异性结合B细胞抗原的CAR,更加特别是特异性结合选自CD20,CD19,CD22,ROR-1,CD37和CD5的组的抗原的CAR。

[0910] 42.实施方案22至41中任一项的II型抗CD20抗体,其中该疾病是B细胞增殖性疾病,特别是CD20阳性B细胞病症,和/或是选自由非霍奇金淋巴瘤(NHL),急性淋巴细胞性白血病(ALL),慢性淋巴细胞性白血病(CLL),弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL),滤泡性淋巴瘤(FL),套细胞淋巴瘤(MCL),边缘区淋巴瘤(MZL),多发性骨髓瘤(MM)和霍奇金淋巴瘤(HL)组成的组的疾病。

[0911] 43.II型抗CD20抗体在制造用于在受试者中降低与T细胞活化性治疗剂的施用相关的细胞因子释放的药物中的用途,其中该药物要用于包括下述的治疗方案:

[0912] (i) 对该受试者施用该II型抗CD20抗体,

[0913] 并且序贯地在一段时间后

[0914] (ii) 对该受试者施用T细胞活化性治疗剂,

[0915] 其中该II型抗CD20抗体的施用和该治疗剂的施用之间的时间段足以响应该CD20抗体的施用而降低该受试者中的B细胞的数量。

[0916] 44.T细胞活化性治疗剂在制造用于在受试者中治疗疾病的药物中的用途,其中该治疗包含包括下述的治疗方案:

[0917] (iii) 对该受试者施用II型抗CD20抗体,

[0918] 并且序贯地在一段时间后

[0919] (iv) 对该受试者施用该T细胞活化性治疗剂,

[0920] 其中该II型抗CD20抗体的施用和该治疗剂的施用之间的时间段足以响应该CD20

抗体的施用而降低该受试者中的B细胞数目。

[0921] 45.实施方案43或44的用途,其中与不施用该II型抗CD20抗体的相应治疗方案相比该治疗方案有效降低该受试者中与该治疗剂的施用相关的细胞因子释放。

[0922] 46.实施方案43至45中任一项的用途,其中该II型抗CD20抗体包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:4的重链CDR (HCDR) 1,SEQ ID NO:5的HCDR2,和SEQ ID NO:6的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:7的轻链CDR (LCDR) 1,SEQ ID NO:8的LCDR2和SEQ ID NO:9的LCDR3。

[0923] 47.实施方案43至46中任一项的用途,其中该II型抗CD20抗体包含SEQ ID NO:10的重链可变区序列和SEQ ID NO:11的轻链可变区序列。

[0924] 48.实施方案43至47中任一项的用途,其中该II型抗CD20抗体是IgG抗体,特别是IgG1抗体。

[0925] 49.实施方案43至48中任一项的用途,其中该II型抗CD20抗体改造成具有Fc区中与未改造的抗体相比比例升高的非岩藻糖基化的寡糖。

[0926] 50.实施方案43至49中任一项的用途,其中该II型抗CD20抗体的Fc区中至少约40%的N连接的寡糖是非岩藻糖基化的。

[0927] 51.实施方案43至50中任一项的用途,其中该II型抗CD20抗体是obinutuzumab。

[0928] 52.实施方案43至51中任一项的用途,其中该治疗剂包含抗体,特别是多特异性抗体。

[0929] 53.实施方案51的用途,其中该治疗剂中包含的抗体特异性结合活化性T细胞抗原,特别是选自由CD3,CD28,CD137 (也称作4-1BB),CD40,CD226,OX40,GITR,CD27,HVEM,和CD127组成的组的抗原,更加特别是CD3,最特别是CD3 ϵ 。

[0930] 54.实施方案52或53的用途,其中该治疗剂中包含的抗体包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:32的重链CDR (HCDR) 1,SEQ ID NO:33的HCDR2,和SEQ ID NO:34的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:35的轻链CDR (LCDR) 1,SEQ ID NO:36的LCDR2和SEQ ID NO:37的LCDR3。

[0931] 55.实施方案52至54中任一项的用途,其中该治疗剂中包含的抗体包含SEQ ID NO:38的重链可变区序列和SEQ ID NO:39的轻链可变区序列。

[0932] 56.实施方案52至55中任一项的用途,其中该治疗剂中包含的抗体特异性结合B细胞抗原,特别是选自由CD20,CD19,CD22,ROR-1,CD37和CD5组成的组的抗原,更加特别是CD20或CD19,最特别是CD20。

[0933] 57.实施方案56的用途,其中该治疗剂中包含的抗体包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:4的重链CDR (HCDR) 1,SEQ ID NO:5的HCDR2,和SEQ ID NO:6的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:7的轻链CDR (LCDR) 1,SEQ ID NO:8的LCDR2和SEQ ID NO:9的LCDR3。

[0934] 58.实施方案56或57的用途,其中该治疗剂中包含的抗体包含SEQ ID NO:10的重链可变区序列和SEQ ID NO:11的轻链可变区序列。

[0935] 59.实施方案43至58中任一项的用途,其中该治疗剂中包含的抗体是双特异性抗体,该双特异性抗体包含(i)实施方案53至55中任一项中定义的抗体和(ii)实施方案56至58中任一项定义的抗体。

[0936] 60. 实施方案43至59中任一项的用途,其中该治疗剂包含CD20XCD3 bsAB。

[0937] 61. 实施方案43至51中任一项的用途,其中该治疗剂包含表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞,特别是特异性结合B细胞抗原的CAR,更加特别是特异性结合选自CD20,CD19,CD22,ROR-1,CD37和CD5的组的抗原的CAR。

[0938] 62. 实施方案43至61中任一项的用途,其中该疾病是B细胞增殖性病症,特别是CD20阳性B细胞病症,和/或是选自由非霍奇金淋巴瘤(NHL),急性淋巴细胞性白血病(ALL),慢性淋巴细胞性白血病(CLL),弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL),滤泡性淋巴瘤(FL),套细胞淋巴瘤(MCL),边缘区淋巴瘤(MZL),多发性骨髓瘤(MM)和霍奇金淋巴瘤(HL)组成的组的疾病。

[0939] 63. 一种用于在受试者中降低与T细胞活化性治疗剂的施用相关的细胞因子释放的试剂盒,其包含包装,该包装包含II型抗CD20抗体组合物和关于在包括下述的治疗方案中使用该II型抗CD20抗体组合物的用法说明书:

[0940] (i) 对该受试者施用该II型抗CD20抗体组合物,

[0941] 并且序贯地在一段时间后

[0942] (ii) 对该受试者施用T细胞活化性治疗剂,

[0943] 其中该II型抗CD20抗体组合物的施用和该治疗剂的施用之间的时间段足以响应该CD20抗体的施用而降低该受试者中的B细胞数目。

[0944] 64. 实施方案63的试剂盒,其进一步包含T细胞活化性治疗剂组合物。

[0945] 65. 一种用于在受试者中治疗疾病的试剂盒,其包含包装,该包装包含T细胞活化性治疗剂组合物和关于在包括下述的治疗方案中使用该治疗剂组合物的用法说明书:

[0946] (i) 对该受试者施用II型抗CD20抗体,

[0947] 并且序贯地在一段时间后

[0948] (ii) 对该受试者施用该T细胞活化性治疗剂组合物,

[0949] 其中该II型抗CD20抗体的施用和该治疗剂组合物的施用之间的时间段足以响应该CD20抗体的施用而降低该受试者中的B细胞数目。

[0950] 66. 实施方案65的试剂盒,其进一步包含II型抗CD20抗体组合物。

[0951] 67. 实施方案63至66中任一项的试剂盒,其中与不施用该II型抗CD20抗体组合物的相应治疗方案相比该治疗方案有效降低该受试者中与该治疗剂的施用相关的细胞因子释放。

[0952] 68. 实施方案63至67中任一项的试剂盒,其中该II型抗CD20抗体包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:4的重链CDR(HCDR)1,SEQ ID NO:5的HCDR2,和SEQ ID NO:6的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:7的轻链CDR(LCDR)1,SEQ ID NO:8的LCDR2和SEQ ID NO:9的LCDR3。

[0953] 69. 实施方案63至68中任一项的试剂盒,其中该II型抗CD20抗体包含SEQ ID NO:10的重链可变区序列和SEQ ID NO:11的轻链可变区序列。

[0954] 70. 实施方案63至69中任一项的试剂盒,其中该II型抗CD20抗体是IgG抗体,特别是IgG1抗体。

[0955] 71. 实施方案63至70中任一项的试剂盒,其中该II型抗CD20抗体改造成具有Fc区中与未改造的抗体相比比例升高的非岩藻糖基化的寡糖。

[0956] 72. 实施方案63至71中任一项的试剂盒,其中该II型抗CD20抗体的Fc区中至少约40%的N连接的寡糖是非岩藻糖基化的。

[0957] 73. 实施方案63至72中任一项的试剂盒,其中该II型抗CD20抗体是obinutuzumab。

[0958] 74. 实施方案63至73中任一项的试剂盒,其中该治疗剂包含抗体,特别是多特异性抗体。

[0959] 75. 实施方案74的试剂盒,其中该治疗剂中包含的抗体特异性结合活化性T细胞抗原,特别是选自由CD3,CD28,CD137(也称作4-1BB),CD40,CD226,OX40,GITR,CD27,HVEM,和CD127组成的组的抗原,更加特别是CD3,最特别是CD3 ϵ 。

[0960] 76. 实施方案74或75的试剂盒,其中该治疗剂中包含的抗体包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:32的重链CDR(HCDR)1,SEQ ID NO:33的HCDR2,和SEQ ID NO:34的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:35的轻链CDR(LCDR)1,SEQ ID NO:36的LCDR2和SEQ ID NO:37的LCDR3。

[0961] 77. 实施方案74至76中任一项的试剂盒,其中该治疗剂中包含的抗体包含SEQ ID NO:38的重链可变区序列和SEQ ID NO:39的轻链可变区序列。

[0962] 78. 实施方案74至77中任一项的试剂盒,其中该治疗剂中包含的抗体特异性结合B细胞抗原,特别是选自由CD20,CD19,CD22,ROR-1,CD37和CD5组成的组的抗原,更加特别是CD20或CD19,最特别是CD20。

[0963] 79. 实施方案78的试剂盒,其中该治疗剂中包含的抗体包含重链可变区,该重链可变区包含SEQ ID NO:4的重链CDR(HCDR)1,SEQ ID NO:5的HCDR2,和SEQ ID NO:6的HCDR3;和轻链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:7的轻链CDR(LCDR)1,SEQ ID NO:8的LCDR2和SEQ ID NO:9的LCDR3。

[0964] 80. 实施方案78或79的试剂盒,其中该治疗剂中包含的抗体包含SEQ ID NO:10的重链可变区序列和SEQ ID NO:11的轻链可变区序列。

[0965] 81. 实施方案78至80中任一项的试剂盒,其中该治疗剂中包含的抗体是双特异性抗体,该双特异性抗体包含(i)实施方案75至77中任一项中定义的抗体和(ii)实施方案78至80中任一项中定义的抗体。

[0966] 82. 实施方案63至81中任一项的试剂盒,其中该治疗剂包含CD20XCD3bsAB。

[0967] 83. 实施方案63至73中任一项的试剂盒,其中该治疗剂包含表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞,特别是特异性结合B细胞抗原的CAR,更加特别是特异性结合选自CD20,CD19,CD22,ROR-1,CD37和CD5的组的抗原的CAR。

[0968] 84. 实施方案63至83中任一项的试剂盒,其中该疾病是B细胞增殖性病症,特别是CD20阳性B细胞病症,和/或是选自由非霍奇金淋巴瘤(NHL),急性淋巴细胞性白血病(ALL),慢性淋巴细胞性白血病(CLL),弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL),滤泡性淋巴瘤(FL),套细胞淋巴瘤(MCL),边缘区淋巴瘤(MZL),多发性骨髓瘤(MM)和霍奇金淋巴瘤(HL)组成的组的疾病。

[0969] 85. 一种T细胞活化性治疗剂,其用于一种在受试者中治疗疾病的方法,该方法包含包括下述的治疗方案:

[0970] (i) 对该受试者施用II型抗CD20抗体,

[0971] 并且序贯地在一段时间后

[0972] (ii) 对该受试者施用该T细胞活化性治疗剂,

[0973] 其中该II型抗CD20抗体的施用和该治疗剂的施用之间的时间段足以响应该CD20抗体的施用而降低该受试者中的B细胞数目。

[0974] 86. 实施方案85的T细胞活化性治疗剂, 其中与不施用该II型抗CD20抗体的相应治疗方案相比该治疗方案有效降低该受试者中与该治疗剂的施用相关的细胞因子释放。

[0975] 87. 实施方案85或86的T细胞活化性治疗剂, 其中该II型抗CD20抗体包含重链可变区, 该重链可变区包含SEQ ID NO:4的重链CDR (HCDR) 1, SEQ ID NO:5的HCDR2, 和SEQ ID NO:6的HCDR3; 和轻链可变区, 该轻链可变区包含SEQ ID NO:7的轻链CDR (LCDR) 1, SEQ ID NO:8的LCDR2和SEQ ID NO:9的LCDR3。

[0976] 88. 实施方案85至87中任一项的T细胞活化性治疗剂, 其中该II型抗CD20抗体包含SEQ ID NO:10的重链可变区序列和SEQ ID NO:11的轻链可变区序列。

[0977] 89. 实施方案85至88中任一项的T细胞活化性治疗剂, 其中该II型抗CD20抗体是IgG抗体, 特别是IgG1抗体。

[0978] 90. 实施方案85至89中任一项的T细胞活化性治疗剂, 其中该II型抗CD20抗体改造成具有Fc区中与未改造的抗体相比比例升高的非岩藻糖基化的寡糖。

[0979] 91. 实施方案85至90中任一项的T细胞活化性治疗剂, 其中该II型抗CD20抗体的Fc区中至少约40%的N连接的寡糖是非岩藻糖基化的。

[0980] 92. 实施方案85至91中任一项的T细胞活化性治疗剂, 其中该II型抗CD20抗体是obinutuzumab。

[0981] 93. 实施方案85至92中任一项的T细胞活化性治疗剂, 其中该治疗剂包含抗体, 特别是多特异性抗体。

[0982] 94. 实施方案93的T细胞活化性治疗剂, 其中该治疗剂中包含的抗体特异性结合活化性T细胞抗原, 特别是选自由CD3, CD28, CD137 (也称作4-1BB), CD40, CD226, OX40, GITR, CD27, HVEM, 和CD127组成的组的抗原, 更加特别是CD3, 最特别是CD3 ϵ 。

[0983] 95. 实施方案93或94的T细胞活化性治疗剂, 其中该治疗剂中包含的抗体包含重链可变区, 该重链可变区包含SEQ ID NO:32的重链CDR (HCDR) 1, SEQ ID NO:33的HCDR2, 和SEQ ID NO:34的HCDR3; 和轻链可变区, 该轻链可变区包含SEQ ID NO:35的轻链CDR (LCDR) 1, SEQ ID NO:36的LCDR2和SEQ ID NO:37的LCDR3。

[0984] 96. 实施方案93至95中任一项的T细胞活化性治疗剂, 其中该治疗剂中包含的抗体包含SEQ ID NO:38的重链可变区序列和SEQ ID NO:39的轻链可变区序列。

[0985] 97. 实施方案93至96中任一项的T细胞活化性治疗剂, 其中该治疗剂中包含的抗体特异性结合B细胞抗原, 特别是选自由CD20, CD19, CD22, ROR-1, CD37和CD5组成的组的抗原, 更加特别是CD20或CD19, 最特别是CD20。

[0986] 98. 实施方案97的T细胞活化性治疗剂, 其中该治疗剂中包含的抗体包含重链可变区, 该重链可变区包含SEQ ID NO:4的重链CDR (HCDR) 1, SEQ ID NO:5的HCDR2, 和SEQ ID NO:6的HCDR3; 和轻链可变区, 该轻链可变区包含SEQ ID NO:7的轻链CDR (LCDR) 1, SEQ ID NO:8的LCDR2和SEQ ID NO:9的LCDR3。

[0987] 99. 实施方案97或98的T细胞活化性治疗剂, 其中该治疗剂中包含的抗体包含SEQ ID NO:10的重链可变区序列和SEQ ID NO:11的轻链可变区序列。

[0988] 100. 实施方案85至99中任一项的T细胞活化性治疗剂,其中该治疗剂中包含的抗体是双特异性抗体包含(i)实施方案94至96中任一项中定义的抗体和(ii)实施方案97至99中任一项定义的抗体。

[0989] 101. 实施方案85至100中任一项的T细胞活化性治疗剂,其中该治疗剂包含CD20XCD3 bsAB。

[0990] 102. 实施方案85至92中任一项的T细胞活化性治疗剂,其中该治疗剂包含表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞,特别是特异性结合B细胞抗原的CAR,更加特别是特异性结合选自CD20,CD19,CD22,ROR-1,CD37和CD5的组的抗原的CAR。

[0991] 103. 实施方案85至102中任一项的T细胞活化性治疗剂,其中该疾病是B细胞增殖性病症,特别是CD20阳性B细胞病症,和/或是选自由非霍奇金淋巴瘤(NHL),急性淋巴细胞性白血病(ALL),慢性淋巴细胞性白血病(CLL),弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL),滤泡性淋巴瘤(FL),套细胞淋巴瘤(MCL),边缘区淋巴瘤(MZL),多发性骨髓瘤(MM)和霍奇金淋巴瘤(HL)组成的组的疾病。

实施例

[0992] 下面是本发明的方法和组合物的实施例。理解的是,鉴于上文提供的一般性描述,可以实践各种其他实施方案。

[0993] 实施例1

[0994] 奥滨尤妥珠单抗而非利妥昔单抗或媒介的在先处理导致食蟹猴中的破伤风类毒素特异性从头IgG抗体应答削弱

[0995] 为了评估奥滨尤妥珠单抗或利妥昔单抗的B细胞消减针对外来抗原的体液免疫应答的功能性影响,在处理对食蟹猴用动物之前从未经历的新抗原进行免疫攻击(针对破伤风类毒素的从头应答)或用动物在CD20抗体施用之前早已遭遇的免疫原进行加强免疫再攻击(针对麻疹/风疹的记忆回忆应答)。

[0996] 在第-14天和第-7天通过静脉内输注对动物施用30mg/kg剂量的利妥昔单抗或奥滨尤妥珠单抗或媒介。在第0天实施破伤风类毒素的免疫接种。来自所有组的幼稚动物在第0天具有0.1IU/ml左右的基线抗破伤风类毒素IgG测量。在第7天,媒介处理的动物和利妥昔单抗处理的动物发起强健的体液抗破伤风类毒素IgG应答,升高至1.0IU/ml左右,而奥滨尤妥珠单抗处理的动物显示削弱的应答,导致0.1IU/ml的等于背景的信号传导。到第21天,媒介处理的和利妥昔单抗处理的动物的血清学滴度继续上升至2.5IU/ml的峰水平(图1)。奥滨尤妥珠单抗处理的动物开始展示滴度略微升高至0.5IU/ml,这显著低于媒介和利妥昔单抗处理的组。血清IgG应答到第51和68天在所有组中衰落,媒介中达到1.5IU/ml左右,利妥昔单抗中达到1.3IU/ml而奥滨尤妥珠单抗处理的动物中返回至0.2IU/ml。

[0997] 这些结果指示奥滨尤妥珠单抗而非利妥昔单抗的在先处理导致食蟹猴中的破伤风类毒素特异性从头IgG抗体应答削弱。

[0998] 为了通过响应麻疹/风疹加强疫苗接种的免疫再攻击而发生的麻疹特异性IgG抗体生成来调查记忆回忆应答,选择具有可测量的基线阳性抗麻疹滴度的动物。在第-14天和第-7天通过静脉内输注对动物施用30mg/kg剂量的利妥昔单抗或奥滨尤妥珠单抗或媒介。在第0天实施麻疹/风疹疫苗接种的免疫再攻击。

[0999] 测量光密度OD450nm读出相对于基线第-14天读出的倍数变化,导致在第21天,第51天和第68天在所有三个组中抗麻疹滴度的可测量升高,在三个不同处理组间没有发现针对麻疹的IgG应答的显著差异(图2)。结论是记忆回忆应答保持完整,不管抗CD20消减疗法。对于具有已建立的基础滴度作为在先疫苗接种的结果的麻疹/风疹疫苗接种,奥滨尤妥珠单抗或利妥昔单抗的施用对针对该麻疹/风疹疫苗接种的加强免疫接种的记忆回忆应答没有可测量的影响。

[1000] 总之,这些结果显示奥滨尤妥珠单抗的在先处理引起较强的对从头抗体应答的遏制,但是保护性体液记忆应答保持完整。不希望受理论束缚,阻断从头体液抗体应答的能力可能有可能归于对奥滨尤妥珠单抗看到的程度升高的内源B细胞消减和/或奥滨尤妥珠单抗增强的消减活化的表达CD20的B细胞的能力。

[1001] 实施例2

[1002] 在具有局部晚期和/或转移性实体瘤的患者中,评估R06895882(cergutuzumab amunaleukin,CEA-IL2v)疗法之前的奥滨尤妥珠单抗预处理的可行性,安全性和药效学效果的一项多中心,随机化,开放标签1期研究

[1003] 方法

[1004] 实施了在有或无奥滨尤妥珠单抗作为预处理的情况下给予R06895882的一项开放标签,多中心,随机化1b期临床子研究。

[1005] 这项子研究的主要目标是确定奥滨尤妥珠单抗预处理是否在随后用R06895882处理的患者中阻止ADA形成。

[1006] 该试验登记在标准护理疗法上进展或对标准护理疗法不耐受的具有局部晚期和/或转移性CEA阳性实体瘤的患者。奥滨尤妥珠单抗和R06895882是静脉内(IV)施用的。

[1007] 将14名患者随机化入奥滨尤妥珠单抗预处理分支并将5名患者随机化至无奥滨尤妥珠单抗预处理的对照分支。奥滨尤妥珠单抗预处理分支中的患者接受在周期1第1天(C1D1)R06895882施用之前的第-13天和第-12天(+/-2天)连续两天施用的2g奥滨尤妥珠单抗(2x1000mg)。预药疗在每一次奥滨尤妥珠单抗剂量给药之前给予。在C1D1所有患者接受一剂固定的且平坦的10mg R06895882。在后续周期,所有患者接受每两周(q2W)在最少2小时里IV输注施用的20mg R06895882。对照分支(无奥滨尤妥珠单抗预处理)中的患者接受在C1D1开始的R06895882施用,与奥滨尤妥珠单抗预处理分支中的患者相同。

[1008] 在处理时段之前和期间收集血液样品用于监测B淋巴细胞计数。使用流式细胞术和CD19染色获得B细胞计数。在基线时及之后在R06895882施用之后每两周获得用于ADA测定的血液样品。

[1009] 所有患者经历基线和处理时的肿瘤活检。对于奥滨尤妥珠单抗预处理的患者,在随机化之后,在施用奥滨尤妥珠单抗之前接受基线活检。对照患者具有在周期1第1天R06895882施用之前接受的肿瘤活检。在周期1第1天(+0/-1天)在R06895882施用之前收集来自头5名用奥滨尤妥珠单抗预处理的患者的处理时的肿瘤活检以确认开始R06895882处理之前的组织B细胞消减。在周期3第14天(+/-2天),在周期4第1天的第四次R06895882施用之前收集来自剩余奥滨尤妥珠单抗预处理的患者的重复肿瘤活检。通过流式细胞术和CD19染色对活检组织的一部分分析B淋巴细胞检测。将第二部分用福尔马林固定并在石蜡中包埋并使用CD20和PAX5染色分析B淋巴细胞。

[1010] 这项研究的主要目标是评估奥滨尤妥珠单抗预处理对降低在周期4时具有ADA滴度的患者的比例的影响,及评估在用R06895882处理之前施用奥滨尤妥珠单抗的安全性和耐受性。

[1011] 这项研究的次要目标包括表征R06895882 ADA(在周期4时)及调查和表征组织(肿瘤和皮肤)和外周血中源自奥滨尤妥珠单抗预处理的B细胞消减。

[1012] 结果

[1013] 已经在研究BP28920 EIH研究(ClinicalTrials.gov标识符:NCT02004106)中测试了R06895882(cergutuzumab amunaleukin,CEA-IL2v)。到2016年11月为止,来自研究BP28920的初步结果显示在74名患者中的59人(80%)中检测到抗CEA-IL2v抗体。在59名ADA阳性患者中,58人(98%)显示持久的免疫应答而1人(1.6%)显示瞬时的免疫应答。ADA应答的强度范围为很低至高滴度(10-196.830),59个持久ADA阳性病例中的32人(54%)显示高ADA滴度(>100)。在一剂R06895882(cergutuzumab amunaleukin,CEA-IL2v)之后,早至第5天,即第一剂后96小时观察到免疫应答的第一次发作。没有鉴定出具有预先存在的ADA的患者且所有ADA均是处理诱导的。在59名患者中的5人(8%)中,在高ADA滴度(>100)以外,还观察到暴露的丧失。在108名接受R06895882的患者中既没有报告超敏感性反应或提示超敏感性的体征和症状,也没有报告ADA介导的不良事件的证据。

[1014] 启动了上文描述的临床子研究来探索作为施用R06895882(cergutuzumab amunaleukin,CEA-IL2v)的预处理给予的奥滨尤妥珠单抗(**Gazyva®**)削弱抗药物抗体(ADA)发生的潜力。该研究已经结束。

[1015] 14名奥滨尤妥珠单抗处理的患者中的14人在周期2第1天(第一次R06895882施用后2周)及贯穿整个研究时段仍然没有针对R06895882的ADA。最长的处理时随访时段长至10个处理周期,即20周。5名未用奥滨尤妥珠单抗预处理的对照患者中的4人在1剂R06895882后发生滴度为10至270的ADA。

[1016] 奥滨尤妥珠单抗预处理的安全性概况在具有局部晚期和/或转移性实体瘤的患者中是可接受的。与CEA-IL2v单一疗法相比,接受奥滨尤妥珠单抗/CEA-IL2v处理的患者并未经历出乎意料的AE。没有报告不良事件所致的致死结局。

[1017] 外周血的流式细胞术分析指示奥滨尤妥珠单抗处理后B细胞的完全消减。在R06895882处理开始(C1D1)前,在所收集的血液样品中检测不到B细胞(图3)。

[1018] 通过流式细胞术和免疫组织化学(IHC)二者对来自奥滨尤妥珠单抗预处理患者的肿瘤活检样品分析B细胞的频率。流式细胞术分析(图4)显示CD19(B淋巴细胞上表达的一种表面蛋白质)染色阳性细胞的数目和百分比强烈降低。对配对肿瘤活检样品的不同部分的IHC分析检测出CD20(B细胞上表达的第二种抗原)染色阳性细胞的减少(图5A和B)。为了排除CD20染色的降低是由可能与抗CD20染色竞争的奥滨尤妥珠单抗引起的,结果通过PAX5(一种B细胞特异性转录因子)染色得到确认,它也强烈降低(图5C和D)。总之,这些结果指示肿瘤和邻近正常组织中B细胞的有效减少。

[1019] 综上所述,来自这项子研究的上述数据强烈提示奥滨尤妥珠单抗有效减轻ADA。

[1020] 实施例3

[1021] CEA TCB疗法之前的奥滨尤妥珠单抗预处理的可行性,安全性和药效学效果的临床评估

[1022] 一项正在进行的CEA TCB I期临床试验(ClinicalTrials.gov标识符:NCT02324257)登记在标准处理上已经进展,对标准护理(SOC)不耐受,和/或不适合SOC的具有局部晚期和/或转移性CEA阳性实体瘤的患者。

[1023] 开放平行患者分队来登记会用奥滨尤妥珠单抗预处理的患者。这些分队的主要目标是确定奥滨尤妥珠单抗预处理是否在随后用CEA TCB处理的患者中阻止ADA形成。奥滨尤妥珠单抗和CEA TCB是静脉内(IV)施用的。奥滨尤妥珠单抗预处理分队中的患者接受2000mg奥滨尤妥珠单抗,或是CEA TCB施用的周期1第1天(C1D1)之前第-13天上的2000mg奥滨尤妥珠单抗IV或是第-13天和第-12天(+/-2天)连续两天上的1000mg奥滨尤妥珠单抗IV。预药疗包括在每一次奥滨尤妥珠单抗剂量给药之前给予的镇痛剂,抗组胺剂和皮质类固醇。在C1D1,所有患者接受最少120分钟IV输注里的一剂平坦(取决于他们所分派的剂量分队,如正在进行的临床试验中定义的)的CEA TCB。在后续周期,所有患者接受相同剂量的CEA TCB,C2D1在最少90分钟IV输注里施用,而且自C3D1起每周(QW)在最少60分钟IV输注里。未接受奥滨尤妥珠单抗预处理的患者在C1D1开始接受CEA TCB施用,与奥滨尤妥珠单抗预处理分队中的患者相同。在处理时段之前和期间收集血液样品用于监测B淋巴细胞计数。使用流式细胞术和CD19染色获得B细胞计数。在基线及之后在CEA TCB施用的每一个周期获得血液样品,用于PK评估CEA TCB的血清水平及用于ADA测定。接受奥滨尤妥珠单抗预处理的患者的这些分队的主要目标是奥滨尤妥珠单抗预处理在降低第8周时具有针对CEA TCB的阳性抗药物抗体(ADA)滴度的患者的比率和/或延迟针对CEA TCB的ADA的发作时间的效果,及评估在用CEA TCB处理之前施用奥滨尤妥珠单抗的安全性和耐受性。该研究还会试图表征针对CEA TCB的ADA;它还包括调查和表征组织(在基线时和在用CEA TCB的C1D1后第7周时进行肿瘤活检)和外周血中源自奥滨尤妥珠单抗预处理的B细胞消减。

[1024] 初步结果

[1025] CEA TCB正在EIH研究(ClinicalTrials.gov标识符:NCT02324257)中进行测试。到2016年10月27日(ADA数据截止)为止,来自研究BP29541的初步结果显示在77名患者中的40人(52%)中检测到抗CEA TCB抗体,这些患者无一接受奥滨尤妥珠单抗预处理,2名具有瞬时阳性滴度的患者除外(一人在周期2第1天时具有30的滴度但然后直至周期24变成阴性,而另一人在周期3第1天时具有270的滴度且在周期4第1天时具有90的滴度但然后直至周期8变成阴性)。除了这两名患者以外,所有38名其他ADA阳性患者均显示持久的免疫应答。ADA应答的强度范围为低至高滴度(10-21870)。38个持久ADA阳性病例中的17人(45%)显示中等ADA滴度(≤ 810),而28个持久ADA阳性病例中的21人(55%)显示高ADA滴度(> 810)。在一剂CEA TCB之后在第8天(C2D1给药前)观察到免疫应答的第一次发作,然而3名患者在周期1第1天给药前具有阳性滴度。鉴定出3名具有预先存在的ADA的患者且在所有其他患者中ADA均是处理诱导的。在38名具有持久免疫应答的患者中的24人(63%)中,持续的ADA存在与暴露的完全丧失有关(范围为自周期3第1天和周期13第1天起(PK数据截止:2016年11月7日))。至今在77名接受CEA TCB的患者中没有报告超敏感性反应或提示超敏感性的体征和症状,或ADA介导的不良事件的证据。以接受奥滨尤妥珠单抗预处理的患者的平行分队启动了上文描述的临床研究来探索作为施用CEA TCB的预处理给予的奥滨尤妥珠单抗(Gazyva®/Gazyvaro®)削弱抗药物抗体(ADA)发生的潜力。该研究正在进行。根据初步数据,到临床截止日2016年10月27日(ADA数据截止)为止,12名至今ADA数据可得的奥滨尤妥

珠单抗预处理的患者 (患者中的2人仅接受奥滨尤妥珠单抗,因为他们当时在临床上恶化且并未接受任何CEA TCB输注)在下述时间点仍然没有针对CEA TCB的ADA:1名患者直至C1,1名患者直至C3,1名患者直至C4,1名患者直至C6,1名患者直至C8,1名患者直至C10,2名患者直至C12,1名患者直至C16,且1名患者直至C25。

[1026] 65名未用奥滨尤妥珠单抗预处理的患者中的8人在1剂CEA TCB之后发生滴度为10至810的ADA。基于初步安全性分析,奥滨尤妥珠单抗预处理的安全性概况在具有局部晚期和/或转移性实体瘤的患者中是可接受的。与并未接受奥滨尤妥珠单抗预处理的相比,在接受每周给药的CEA TCB之前接受奥滨尤妥珠单抗预处理的患者并未经历出乎意料不良事件(AE)。外周血的流式细胞术分析指示奥滨尤妥珠单抗处理后B细胞的完全消减。在CEA TCB处理开始(C1D1)前,在所收集的血液样品中检测不到B细胞。在基线时在接受奥滨尤妥珠单抗预处理之前和在处理时周期7第1天采取来自奥滨尤妥珠单抗预处理患者的肿瘤活检样品。该分析仍在进行。

[1027] 实施例4

[1028] 完全人源化的小鼠中由CD20XCD3 bsAB±奥滨尤妥珠单抗预处理(Gpt)介导的抗肿瘤活性和细胞因子释放的评估

[1029] 我们调查Gpt是否能在完全人源化的NOG小鼠中阻止与第一次施用CD20XCD3 bsAB相关的细胞因子释放。

[1030] 所有处理选项(奥滨尤妥珠单抗,CD20XCD3 bsAB和Gpt±CD20XCD3bsAB)均引起早在第一次疗法施用后24小时检测到的有效的外周血B细胞消减(图7A)。T细胞计数揭示第一次施用CD20XCD3 bsAB后而非奥滨尤妥珠单抗或Gpt±CD20XCD3 bsAB后24小时外周血中的瞬时减少(图7B)。因此,在CD20XCD3 bsAB之前施用,单次施用奥滨尤妥珠单抗消除外周血中由CD20XCD3 bsAB介导的T细胞减少。

[1031] 不同实验组中的经处理小鼠的血液中释放的细胞因子的分析揭示CD20XCD3 bsAB处理诱导血液中数种细胞因子的瞬时升高,第一次施用后24小时达到峰并到72小时回到基线水平附近(图8)。MIP-1b,IL-5,IL-10,MCP-1显示与IFN γ,TNFα和IL-6相似的趋势(未显示)。Gpt强烈降低外周血中与第一次CD20XCD3 bsAB注射相关的细胞因子释放(表2)。

[1032] 表2。CD20XCD3 bsAB和Gpt+CD20XCD3 bsAB处理后完全人源化的NOG小鼠的外周血中释放的细胞因子。

[1033]

细胞因子	媒介	处理	
		CD20XCD3 bsAB	Gpt + CD20XCD3 bsAB

	(pg/ml)	(pg/ml)	(pg/ml)
[1034]	IFN-g	18.50 (18.07)	756.95 (357.30)
	TNF-a	12.47 (2.95)	79.56 (28.98)
	IL-6	15.39 (7.15)	613.27 (140.60)
	IL-8	11.44 (2.64)	292.68 (132.36)
	MIP-1b	272.70 (97.05)	2129.44 (132.36)
	MCP-1	73.49 (13.89)	2146.31 (672.69)
	IL-10	223.48 (62.48)	15,278.89 (6584.50)
	IL-4	0.75 (0.14)	1.99 (0.77)
	G-CSF	14.60 (5.14)	21.23 (16.36)
	GM-CSF	945.97 (155.74)	1207.48 (299.83)
	IL-5	10.42 (3.35)	162.33 (140.82)
	IL-2	19.1 (8.42)	369.70 (360.64)
	IL-13	5.39 (3.66)	15.42 (11.18)
	IL-1b	1.48 (0.2)	6.40 (1.94)
	IL-7	6.98 (0)	4.27 (2.55)
	IL-12p40	43.59 (19.45)	51.31 (23.12)
	IL-17	194.40 (96.32)	274.79 (112.20)

[1035] 注释:数据以算术均值(SD)展示。两种处理中均为N=5。

[1036] CD20XCD3 bsAB的抗肿瘤活性不受奥滨尤妥珠单抗预处理影响(图9)。作为单一疗法,奥滨尤妥珠单抗处理显示强烈的抗肿瘤活性,尽管在这种肿瘤和小鼠模型中动力学与CD20XCD3 bsAB相比要慢。

[1037] 因此,数据指示Gpt降低与第一次CD20XCD3 bsAB注射相关的细胞因子释放,然而,尽管靶向肿瘤细胞上的相同抗原,CD20XCD3 bsAB的抗肿瘤活性不受Gpt影响。

[1038] 实施例5

[1039] 食蟹猴中的奥滨尤妥珠单抗预处理研究

[1040] 实施了雄性食蟹猴中的一项机制研究(非GLP)来调查奥滨尤妥珠单抗预处理对针对0.1,0.3和1mg/kg剂量的CD20XCD3 bsAB的响应的影响(表3)。在这项研究中,6只幼稚雄性食蟹猴/组(第1组4只)接受一剂IV对照项1(第1和2组)或奥滨尤妥珠单抗(50mg/kg,第3,4,5组),4天后继以对照项2(第1组),0.1mg/kg CD20XCD3 bsAB(第2组,第3组),0.3mg/kg CD20XCD3bsAB(第4组)或1mg/kg CD20XCD3 bsAB(第5组)处理。认为奥滨尤妥珠单抗和CD20XCD3 bsAB剂量给药之间的4天足以容许奥滨尤妥珠单抗消减外周血,淋巴结和脾中的B细胞。在第12天,对2只来自第1组的动物和4只来自第2至5组的动物尸检(终末尸检)。为8周恢复时段保留2只来自每一个组的动物。

[1041] 表3。研究设计:食蟹猴中的奥滨尤妥珠单抗预处理。

[1042]

组号	测试项	给药日	剂量水平 (mg/kg)	雄性数目	
				主要 ^a	恢复 ^b
1	对照项1	1	0	2	2
	对照项2	5	0		
2	对照项1	1	0	4	2
	CD20XCD3 bsAB	5	0.1		
3	奥滨尤妥珠单抗	1	50	4	2
	CD20XCD3 bsAB	5	0.1		
4	奥滨尤妥珠单抗	1	50	4	2
	CD20XCD3 bsAB	5	0.3		
5	奥滨尤妥珠单抗	1	50	4	2
	CD20XCD3 bsAB	5	1		

[1043] 注释:对照项1=奥滨尤妥珠单抗的对照;对照项2=CD20XCD3 bsAB的对照。

[1044] ^a主要组动物,终末尸检第12天。

[1045] ^b恢复动物,尸检第8周(第61天)。

[1046] 下述数据自这项研究可得:

[1047] • 在奥滨尤妥珠单抗预处理(50mg/kg, Gpt)后, IV施用CD20XCD3 bsAB直至最高测试剂量1mg/kg得到耐受。在所有剂量的CD20XCD3 bsAB, 对单独的CD20XCD3 bsAB观察到的临床体征(呕吐, 驼背体态和活动减退)通过Gpt显著减轻。

[1048] • 单独的CD20XCD3 bsAB施用导致B淋巴细胞减少和T淋巴细胞(CD4+和CD8+)子集和NK细胞的活化和扩充。与之对比, 在施用CD20XCD3 bsAB之前施用奥滨尤妥珠单抗导致B淋巴细胞消减, 以及随后T淋巴细胞活化削弱, 表现为CD20XCD3 bsAB施用后淋巴细胞和单核细胞群体的瞬时减少降低, 以及T细胞活化标志物上调和扩充降低, 是相对于单独用CD20XCD3 bsAB处理的动物存在的变化而言的。

[1049] • 0.1mg/kg CD20XCD3 bsAB处理后4小时的IFN γ , IL-8, TNF α , IL-2和IL-6的释放在Gpt组中显著降低。类似地, 在Gpt组中在更高剂量的CD20XCD3 bsAB注意到低水平的细胞因子释放(图10)。

[1050] CD20XCD3 bsAB相关组织病理学发现局限于淋巴样器官(例如, 脾的淋巴滤泡中存在降低的特异性影响CD20阳性细胞的细胞性(cellularity))。CD20阳性细胞减少在8周无处理时段后几乎完全逆转。在用0.1mg/kg CD20XCD3 bsAB处理的猴中和Gpt后施用0.1, 0.3或1mg/kg CD20XCD3bsAB的动物中不存在其它组织病理学变化, 包括脑, 脊髓和坐骨神经中。

[1051] 实施例6

[1052] 具有r/r NHL的患者中在有奥滨尤妥珠单抗预处理的情况下CD20XCD3 bsAB的安全性, 耐受性和药动学的临床评估

[1053] 实施一项I期剂量放大研究, 其主要目标包括评估在具有复发性/顽固性(r/r) NHL的患者中在有奥滨尤妥珠单抗预处理的情况下CD20XCD3 bsAB的安全性, 耐受性和药动学。

[1054] 该研究登记具有r/r NHL的患者,他们的肿瘤预期在B细胞中表达CD20。不会登记具有CLL的患者。患者预期在至少一个在先处理方案后复发或未能响应至少一个在先处理方案。

[1055] 静脉内(IV)施用奥滨尤妥珠单抗和CD20XCD3 bsAB。

[1056] 在施用奥滨尤妥珠单抗和CD20XCD3 bsAB之前,连同抗组胺剂和乙酰氨基酚一起,施用皮质类固醇(例如20mg IV地塞米松,80mg IV甲基强的松,或等同物)预治疗。还根据需要或要求推荐针对其它事件,诸如肿瘤裂解综合征的防范性措施。

[1057] 在周期1/第1天(C1/D1)启动通过静脉内(IV)输注的作为单一药剂的CD20XCD3 bsAB,这在第一剂CD20XCD3 bsAB(周期1/第1天)前7天(周期1/第-7天)的单剂奥滨尤妥珠单抗(1000mg;IV)的预处理之后。CD20XCD3bsAB的预期起始剂量是5微克(平坦剂量给药)。所有剂量给药周期长14天(Q2W),只在周期1中给予额外的一剂。如此,剂量给药日程表是在周期1中的第1和8天(C1/D1;C1/D8)施用CD20XCD3 bsAB,接着在所有后续周期中只在第1天(Q2W)进行剂量给药,总共12个周期(24周)的处理或直至不可接受的毒性或进展发生。

[1058] 在适宜的时间点收集血液样品以测定CD20XCD3 bsAB的相关PK特性,以及血液中的一系列PD标志物,评估例如Gpt和CD20XCD3 bsAB剂量给药起始后B细胞消减的程度和动力学,T细胞表型,及评估在选定时间点施用Gpt和CD20XCD3 bsAB后的可溶性介导物释放(细胞因子和趋化因子)。

[1059] 实施例7

[1060] 递升剂量给药(SUD)和奥滨尤妥珠单抗预处理(Gpt)的抗肿瘤活性的比较

[1061] 如这个实施例中显示的,就抗肿瘤活性和T细胞在外周组织中的重分配而言,Gpt是胜过递升剂量给药(SUD)的一种卓越办法。

[1062] 内部生成完全人源化的NOG雌性小鼠(Taconic)。实验开始时年龄为20周。对在研究第0天所有小鼠皮下注射 1.5×10^6 个WSU-DLCL2细胞(人弥漫性大B细胞淋巴瘤)。肿瘤细胞施用后7天(第7天),对小鼠静脉内施用第一次处理,如表4中所示。在第14天施用表4中所示第二次处理。

[1063] 9周CD20XCD3 bsAB处理后,研究结束时(第69天)无肿瘤小鼠的数目在处理前有奥滨尤妥珠单抗时(Gpt)比之前有CD20XCD3 bsAB的三种单个分剂量任一时(SUD)要高(图11,表4)。

[1064] 表4。在携带WSU-DLCL2肿瘤的完全人源化的NOG小鼠中CD20XCD3 bsAB递升剂量给药和奥滨尤妥珠单抗预处理(Gpt)后的抗肿瘤活性。

[1065]	第一次处理 (剂量)	第二次处理 (剂量)	结束(第69天)时的 无肿瘤小鼠
	CD20XCD3 bsAB (0.15 mg/kg)	CD20XCD3 bsAB (0.5 mg/kg)	4/9
	CD20XCD3 bsAB (0.05 mg/kg)	CD20XCD3 bsAB (0.5 mg/kg)	2/9
	CD20XCD3 bsAB (0.015 mg/kg)	CD20XCD3 bsAB (0.5 mg/kg)	3/10
	奥滨尤妥珠单抗 (10 mg/kg)	CD20XCD3 bsAB (0.5 mg/kg)	7/10

[1066] 在卓越的抗肿瘤功效以外,在第一次(预)处理后7天(对应于研究第14天),在CD20XCD3 bsAB处理的小鼠(全剂量或全剂量的部分)而非奥滨尤妥珠单抗(10mg/kg)处理的小鼠(图12A-D)的肺中观察到血管周CD3阳性T细胞的增多。与第二次处理后24小时(研究第15天)对应的稍后时间点时的分析同样如此(图12E-H)。

[1067] 对于这项实验,生成小鼠并注射肿瘤细胞,如上文描述的。在肿瘤细胞施用后7天,对小鼠静脉内施用处理,如表5A中所示。

[1068] 在接受一剂CD20XCD3 bsAB,奥滨尤妥珠单抗或媒介后7天处死4只动物/组。在第14天接受第二次处理后24小时处死剩余4只动物/组,如表5B中所示。对照接受媒介缓冲液。

[1069] 在尸检时收集肺,肝和肾并用免疫组织化学(IHC)对连续切片针对人CD3染色,依照已建立的方案进行。使用0(切片中没有或罕见CD3阳性细胞)至3(血管/导管周围有许多CD3阳性细胞)的得分由委员会认证的兽医病理学家通过免疫组织化学盲试评估针对CD3染色的切片。

[1070] 来自肺切片的代表性结果在图12,表5中显示。

[1071] 在单剂 $\geq 0.05\text{mg/kg}$ CD20XCD3 bsAB(全剂量或全剂量的部分)后7天在小鼠的肺中观察到血管周CD3阳性T细胞的剂量依赖性增多,但是在奥滨尤妥珠单抗处理的小鼠中没有(图12A-D,表5A)。

[1072] 表5A.CD3的肺IHC-第一次处理后7天处死的动物。表显示肺中的血管周CD3阳性T细胞的平均得分(通过盲试病理学家分析实施)。

[1073]	处理(剂量)	平均得分
	媒介(-)	0.75
	CD20XCD3 bsAB (0.5mg/kg)	3
	CD20XCD3 bsAB (0.15mg/kg)	1.75
	CD20XCD3 bsAB (0.05mg/kg)	1.5
	CD20XCD3 bsAB (0.015mg/kg)	0.5
	奥滨尤妥珠单抗 (10mg/kg)	0.25

[1074] 在单剂或重复多剂CD20XCD3 bsAB后24小时在小鼠中也观察到血管周T细胞的增多,但是在用奥滨尤妥珠单抗预处理的小鼠中没有(图12E-H,表5B)。

[1075] 表5B。CD3的肺IHC- 第二次处理后24小时处死的动物。表显示肺中的血管周CD3阳性T细胞的平均得分(通过盲试病理学家分析实施)。

[1076]	第一次处理(剂量)	第二次处理(剂量)	平均得分
	媒介 (-)	媒介 (-)	0
	媒介 (-)	CD20XCD3 bsAB (0.5 mg/kg)	1.5
[1077]	CD20XCD3 bsAB (0.15 mg/kg)	CD20XCD3 bsAB (0.5 mg/kg)	1.7
	CD20XCD3 bsAB (0.05 mg/kg)	CD20XCD3 bsAB (0.5 mg/kg)	2.5
	CD20XCD3 bsAB (0.015 mg/kg)	CD20XCD3 bsAB (0.5 mg/kg)	2.3
	奥滨尤妥珠单抗 (10 mg/kg)	CD20XCD3 bsAB (0.5 mg/kg)	0.5

[1078] 在接受单剂0.5mg/kg of CD20XCD3 bsAB,处理后24小时处死的动物中,肺血管中存在的CD3阳性T细胞的迁移和粘附(图13),提示T细胞的早期活化及移居入血管周隙。

[1079] 总之,全剂量或部分全剂量的CD20XCD3 bsAB的单次或重复多次处理导致CD3阳性T细胞与对照相比增多及肺中的血管周分布,肝中和肾中的肾小球中的血管周/导管周分布(肝和肾数据未显示)。这些变化在用奥滨尤妥珠单抗预处理的动物中没有发生。

[1080] 实施例8

[1081] 有或无Gpt的食蟹猴中的CD20XCD3 bsAB暴露的比较

[1082] 在这个实施例中,Gpt显示出提高CD20XCD3 bsAB暴露。在有或无奥滨尤妥珠单抗预处理(Gpt)(50mg/kg,在CD20XCD3 bsAB施用前4天)的情况下对食蟹猴施用单剂IV 100-1000 μ g/kg CD20XCD3 bsAB。

[1083] 源自奥滨尤妥珠单抗(50mg/kg)消减CD20⁺B细胞的暴露升高通过在有或无Gpt的情况下单剂100 μ g/kg CD20XCD3 bsAB后的CD20XCD3 bsAB血清水平来显示(图14)。Gpt后CD20XCD3 bsAB的清除显著降低至在没有Gpt的组中观察到的清除的约四分之一(表6)。到CD20XCD3 bsAB剂量给药的时间,Gpt将B细胞减少至基线水平的约1-5%。清除的降低与Gpt诱导的B细胞消减和所致靶物介导的自B细胞结合清除的降低一致。在Gpt后,清除和中央分布体积(Vc)不依赖于所研究的剂量范围中的剂量,清除值在90mL/天/kg左右且Vc值在40mL/kg左右,这与血清体积相似。

[1084] 表6。在食蟹猴中在有或无奥滨尤妥珠单抗预处理的情况下单次静脉内施用后CD20XCD3 bsAB的均值药动学参数。

[1085]	剂量 (μ g/kg)	奥滨尤妥珠 单抗 预处理	CL (mL/天/kg)	V _c (mL/kg)	T _{1/2} ^a (h)	C _{最大} (μ g/mL)	AUC _{无穷/剂量} (μ g·h/mL/ μ g/kg)
[1086]	100	无	384 (27.7)	43.2 (16.8)	7.53 (50.3)	2.22 (17.3)	0.0679 (36.3)
	100	是	81.7 (22.4)	41.1 (13.6)	67.7 (34.0)	2.56 (12.5)	0.308 (25.1)
	300	是	110 (28.8)	37.9 (5.2)	53.4 (10.4)	7.63 (7.8)	0.234 (29.4)
	1000	是	87.5 (19.0)	34.9 (10.0)	54.6 (17.6)	28.7 (9.8)	0.283 (19.7)

[1087] AUC_{∞} = 时间0至无穷的浓度-时间曲线下面积; C_L = 清除; $C_{\text{最大}}$ = 最大浓度; $T_{1/2}$ = 半衰期; V_c = 中央分布体积。

[1088] 注释: 在一项机制性安全性研究中在有或无奥滨尤妥珠单抗预处理 (Gpt) (50mg/kg, 在CD20XCD3 bsAB施用前5天) 的情况下对食蟹猴施用单剂IV100-1000μg/kg CD20XCD3 bsAB。数值是每组6只动物的平均值 (± %CV)。

[1089] ^a表观 $T_{1/2}$ (由于非线性药动学)

[1090] 实施例9

[1091] 奥滨尤妥珠单抗预处理以避免CAR-T细胞的过继性T细胞疗法后的细胞因子释放

[1092] 细胞因子释放综合征 (CRS) 是用CD19 CAR-T细胞以及针对CD20或CD22的CAR-T细胞处理后非常频繁的现象, 能导致致死副作用。避免或降低CRS的策略聚焦于CAR-T疗法的各个方面 (综述于Xu and Tang, Cancer Letters (2014) 343, 172-178)。

[1093] 我们建议一种新颖办法来避免B细胞增殖性病症中用CAR-T细胞处理后的CRS, 其通过使用奥滨尤妥珠单抗预处理来消减外周和恶性B细胞进行。

[1094] 为此目的, 将具有B细胞增殖性病症 (例如NHL) 的患者随机化入奥滨尤妥珠单抗预处理分支和没有奥滨尤妥珠单抗预处理的对照分支。奥滨尤妥珠单抗预处理分支中的患者接受1g奥滨尤妥珠单抗, 在施用CD19, CD20或CD22 CAR-T细胞之前第-7天 (+/-2天) 施用。

[1095] 对患者输注对于所使用的具体CAR-T细胞, 患者和要治疗的疾病适宜的剂量的经CAR慢病毒载体转导的自体T细胞 (例如 0.76×10^6 至 20.6×10^6 个CAR-T细胞每千克体重, 如Maude et al., N Engl J Med (2014) 371, 1507-1517中描述的; 1.4×10^6 至 1.2×10^7 个CAR-T细胞每千克体重, 如Grupp et al., New Engl J Med (2013) 368, 1509-1518中描述的; 或 0.14×10^8 至 11×10^8 个CAR-T细胞, 如Porter et al., Sci Transl Med (2015) 7, 303ra139中描述的)。对患者监测响应, 毒性效应, 和循环中的CAR-T细胞的扩充和存留。

[1096] 在每一次奥滨尤妥珠单抗剂量给药之前给予预药疗。在处理时段之前和期间收集血液样品用于监测B淋巴细胞计数。使用流式细胞术和CD19染色获得B细胞计数。另外, 通过测量包括IL-6在内的细胞因子来筛选CRS的发生率。

[1097] ***

[1098] 尽管为了理解清楚的目的已经通过例示和实施例较为详细地描述了前述发明, 但是该描述和实施例不应解释为限制本发明的范围。通过提述明确完整收录本文中引用的所有专利和科学文献的公开内容。

[0001] 序列表
 [0002] <110> 豪夫迈·罗氏有限公司(F. Hoffmann-La Roche AG)
 [0003] <120> II型抗CD20抗体用于降低抗药物抗体形成
 [0004] <130> P33257
 [0005] <150> EP15198715
 [0006] <151> 2015-12-09
 [0007] <150> EP16172739
 [0008] <151> 2016-06-02
 [0009] <150> EP16193151
 [0010] <151> 2016-10-10
 [0011] <160> 150
 [0012] <170> PatentIn version 3.5
 [0013] <210> 1
 [0014] <211> 297
 [0015] <212> PRT
 [0016] <213> 人(Homo sapiens)
 [0017] <400> 1
 [0018] Met Thr Thr Pro Arg Asn Ser Val Asn Gly Thr Phe Pro Ala Glu Pro
 [0019] 1 5 10 15
 [0020] Met Lys Gly Pro Ile Ala Met Gln Ser Gly Pro Lys Pro Leu Phe Arg
 [0021] 20 25 30
 [0022] Arg Met Ser Ser Leu Val Gly Pro Thr Gln Ser Phe Phe Met Arg Glu
 [0023] 35 40 45
 [0024] Ser Lys Thr Leu Gly Ala Val Gln Ile Met Asn Gly Leu Phe His Ile
 [0025] 50 55 60
 [0026] Ala Leu Gly Gly Leu Leu Met Ile Pro Ala Gly Ile Tyr Ala Pro Ile
 [0027] 65 70 75 80
 [0028] Cys Val Thr Val Trp Tyr Pro Leu Trp Gly Gly Ile Met Tyr Ile Ile
 [0029] 85 90 95
 [0030] Ser Gly Ser Leu Leu Ala Ala Thr Glu Lys Asn Ser Arg Lys Cys Leu
 [0031] 100 105 110
 [0032] Val Lys Gly Lys Met Ile Met Asn Ser Leu Ser Leu Phe Ala Ala Ile
 [0033] 115 120 125
 [0034] Ser Gly Met Ile Leu Ser Ile Met Asp Ile Leu Asn Ile Lys Ile Ser
 [0035] 130 135 140
 [0036] His Phe Leu Lys Met Glu Ser Leu Asn Phe Ile Arg Ala His Thr Pro
 [0037] 145 150 155 160
 [0038] Tyr Ile Asn Ile Tyr Asn Cys Glu Pro Ala Asn Pro Ser Glu Lys Asn

[0039]	165																170				175							
[0040]	Ser	Pro	Ser	Thr	Gln	Tyr	Cys	Tyr	Ser	Ile	Gln	Ser	Leu	Phe	Leu	Gly												
[0041]	180																185				190							
[0042]	Ile	Leu	Ser	Val	Met	Leu	Ile	Phe	Ala	Phe	Phe	Gln	Glu	Leu	Val	Ile												
[0043]	195																200				205							
[0044]	Ala	Gly	Ile	Val	Glu	Asn	Glu	Trp	Lys	Arg	Thr	Cys	Ser	Arg	Pro	Lys												
[0045]	210																215				220							
[0046]	Ser	Asn	Ile	Val	Leu	Leu	Ser	Ala	Glu	Glu	Lys	Lys	Glu	Gln	Thr	Ile												
[0047]	225																230				235				240			
[0048]	Glu	Ile	Lys	Glu	Glu	Val	Val	Gly	Leu	Thr	Glu	Thr	Ser	Ser	Gln	Pro												
[0049]	245																250				255							
[0050]	Lys	Asn	Glu	Glu	Asp	Ile	Glu	Ile	Ile	Pro	Ile	Gln	Glu	Glu	Glu	Glu												
[0051]	260																265				270							
[0052]	Glu	Glu	Thr	Glu	Thr	Asn	Phe	Pro	Glu	Pro	Pro	Gln	Asp	Gln	Glu	Ser												
[0053]	275																280				285							
[0054]	Ser	Pro	Ile	Glu	Asn	Asp	Ser	Ser	Pro																			
[0055]	290																295											
[0056]	<210> 2																											
[0057]	<211> 112																											
[0058]	<212> PRT																											
[0059]	<213> 小鼠 (Mus musculus)																											
[0060]	<400> 2																											
[0061]	Gly	Pro	Glu	Leu	Val	Lys	Pro	Gly	Ala	Ser	Val	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys												
[0062]	1																5				10				15			
[0063]	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ala	Phe	Ser	Tyr	Ser	Trp	Met	Asn	Trp	Val	Lys	Leu												
[0064]	20																25				30							
[0065]	Arg	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	Gly	Arg	Ile	Phe	Pro	Gly	Asp												
[0066]	35																40				45							
[0067]	Gly	Asp	Thr	Asp	Tyr	Asn	Gly	Lys	Phe	Lys	Gly	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr												
[0068]	50																55				60							
[0069]	Ala	Asp	Lys	Ser	Ser	Asn	Thr	Ala	Tyr	Met	Gln	Leu	Thr	Ser	Leu	Thr												
[0070]	65																70				75				80			
[0071]	Ser	Val	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Leu	Cys	Ala	Arg	Asn	Val	Phe	Asp	Gly												
[0072]	85																90				95							
[0073]	Tyr	Trp	Leu	Val	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ala												
[0074]	100																105				110							
[0075]	<210> 3																											
[0076]	<211> 103																											
[0077]	<212> PRT																											

[0078]	<213> 小鼠 (Mus musculus)
[0079]	<400> 3
[0080]	Asn Pro Val Thr Leu Gly Thr Ser Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser
[0081]	1 5 10 15
[0082]	Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu
[0083]	20 25 30
[0084]	Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn
[0085]	35 40 45
[0086]	Leu Val Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Ser Ser Gly Ser Gly Thr
[0087]	50 55 60
[0088]	Asp Phe Thr Leu Arg Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val
[0089]	65 70 75 80
[0090]	Tyr Tyr Cys Ala Gln Asn Leu Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly
[0091]	85 90 95
[0092]	Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
[0093]	100
[0094]	<210> 4
[0095]	<211> 5
[0096]	<212> PRT
[0097]	<213> 人工序列
[0098]	<220>
[0099]	<223> CD20 HCDR1
[0100]	<400> 4
[0101]	Tyr Ser Trp Ile Asn
[0102]	1 5
[0103]	<210> 5
[0104]	<211> 17
[0105]	<212> PRT
[0106]	<213> 人工序列
[0107]	<220>
[0108]	<223> CD20 HCDR2
[0109]	<400> 5
[0110]	Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe Lys
[0111]	1 5 10 15
[0112]	Gly
[0113]	<210> 6
[0114]	<211> 10
[0115]	<212> PRT
[0116]	<213> 人工序列

[0117] <220>
[0118] <223> CD20 HCDR3
[0119] <400> 6
[0120] Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr
[0121] 1 5 10
[0122] <210> 7
[0123] <211> 16
[0124] <212> PRT
[0125] <213> 人工序列
[0126] <220>
[0127] <223> CD20 LCDR1
[0128] <400> 7
[0129] Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr
[0130] 1 5 10 15
[0131] <210> 8
[0132] <211> 7
[0133] <212> PRT
[0134] <213> 人工序列
[0135] <220>
[0136] <223> CD20 LCDR2
[0137] <400> 8
[0138] Gln Met Ser Asn Leu Val Ser
[0139] 1 5
[0140] <210> 9
[0141] <211> 9
[0142] <212> PRT
[0143] <213> 人工序列
[0144] <220>
[0145] <223> CD20 LCDR3
[0146] <400> 9
[0147] Ala Gln Asn Leu Glu Leu Pro Tyr Thr
[0148] 1 5
[0149] <210> 10
[0150] <211> 119
[0151] <212> PRT
[0152] <213> 人工序列
[0153] <220>
[0154] <223> CD20 VH
[0155] <400> 10

[0156]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
[0157]	1 5 10 15
[0158]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Tyr Ser
[0159]	20 25 30
[0160]	Trp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
[0161]	35 40 45
[0162]	Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
[0163]	50 55 60
[0164]	Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
[0165]	65 70 75 80
[0166]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[0167]	85 90 95
[0168]	Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly
[0169]	100 105 110
[0170]	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[0171]	115
[0172]	<210> 11
[0173]	<211> 115
[0174]	<212> PRT
[0175]	<213> 人工序列
[0176]	<220>
[0177]	<223> CD20 VL
[0178]	<400> 11
[0179]	Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
[0180]	1 5 10 15
[0181]	Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
[0182]	20 25 30
[0183]	Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
[0184]	35 40 45
[0185]	Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn Leu Val Ser Gly Val Pro
[0186]	50 55 60
[0187]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
[0188]	65 70 75 80
[0189]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Asn
[0190]	85 90 95
[0191]	Leu Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
[0192]	100 105 110
[0193]	Arg Thr Val
[0194]	115

[0195]	<210> 12
[0196]	<211> 133
[0197]	<212> PRT
[0198]	<213> 人(Homo sapiens)
[0199]	<400> 12
[0200]	Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[0201]	1 5 10 15
[0202]	Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[0203]	20 25 30
[0204]	Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
[0205]	35 40 45
[0206]	Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[0207]	50 55 60
[0208]	Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
[0209]	65 70 75 80
[0210]	Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
[0211]	85 90 95
[0212]	Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
[0213]	100 105 110
[0214]	Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
[0215]	115 120 125
[0216]	Ile Ser Thr Leu Thr
[0217]	130
[0218]	<210> 13
[0219]	<211> 133
[0220]	<212> PRT
[0221]	<213> 人工序列
[0222]	<220>
[0223]	<223> IL2v
[0224]	<400> 13
[0225]	Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
[0226]	1 5 10 15
[0227]	Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
[0228]	20 25 30
[0229]	Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys
[0230]	35 40 45
[0231]	Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
[0232]	50 55 60
[0233]	Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu

[0234]	65	70	75	80
[0235]	Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu			
[0236]		85	90	95
[0237]	Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala			
[0238]		100	105	110
[0239]	Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile			
[0240]		115	120	125
[0241]	Ile Ser Thr Leu Thr			
[0242]	130			
[0243]	<210> 14			
[0244]	<211> 5			
[0245]	<212> PRT			
[0246]	<213> 人工序列			
[0247]	<220>			
[0248]	<223> CEA HCDR1			
[0249]	<400> 14			
[0250]	Glu Phe Gly Met Asn			
[0251]	1	5		
[0252]	<210> 15			
[0253]	<211> 17			
[0254]	<212> PRT			
[0255]	<213> 人工序列			
[0256]	<220>			
[0257]	<223> CEA HCDR2			
[0258]	<400> 15			
[0259]	Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe Lys			
[0260]	1	5	10	15
[0261]	Gly			
[0262]	<210> 16			
[0263]	<211> 12			
[0264]	<212> PRT			
[0265]	<213> 人工序列			
[0266]	<220>			
[0267]	<223> CEA HCDR3			
[0268]	<400> 16			
[0269]	Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr			
[0270]	1	5	10	
[0271]	<210> 17			
[0272]	<211> 11			

[0273]	<212>	PRT
[0274]	<213>	人工序列
[0275]	<220>	
[0276]	<223>	CEA LCDR1
[0277]	<400>	17
[0278]	Lys Ala Ser Ala Ala Val Gly Thr Tyr Val Ala	
[0279]	1	5 10
[0280]	<210>	18
[0281]	<211>	7
[0282]	<212>	PRT
[0283]	<213>	人工序列
[0284]	<220>	
[0285]	<223>	CEA LCDR2
[0286]	<400>	18
[0287]	Ser Ala Ser Tyr Arg Lys Arg	
[0288]	1	5
[0289]	<210>	19
[0290]	<211>	10
[0291]	<212>	PRT
[0292]	<213>	人工序列
[0293]	<220>	
[0294]	<223>	CEA LCDR3
[0295]	<400>	19
[0296]	His Gln Tyr Tyr Thr Tyr Pro Leu Phe Thr	
[0297]	1	5 10
[0298]	<210>	20
[0299]	<211>	121
[0300]	<212>	PRT
[0301]	<213>	人工序列
[0302]	<220>	
[0303]	<223>	CEA VH
[0304]	<400>	20
[0305]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala	
[0306]	1	5 10 15
[0307]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Phe	
[0308]	20	25 30
[0309]	Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met	
[0310]	35	40 45
[0311]	Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe	

[0312]	50	55	60
[0313]	Lys Gly Arg Val Thr Phe Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr		
[0314]	65	70	75 80
[0315]	Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
[0316]	85	90	95
[0317]	Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly		
[0318]	100	105	110
[0319]	Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser		
[0320]	115	120	
[0321]	<210> 21		
[0322]	<211> 108		
[0323]	<212> PRT		
[0324]	<213> 人工序列		
[0325]	<220>		
[0326]	<223> CEA VL		
[0327]	<400> 21		
[0328]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly		
[0329]	1	5	10 15
[0330]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Ala Ala Val Gly Thr Tyr		
[0331]	20	25	30
[0332]	Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile		
[0333]	35	40	45
[0334]	Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Lys Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
[0335]	50	55	60
[0336]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
[0337]	65	70	75 80
[0338]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Tyr Thr Tyr Pro Leu		
[0339]	85	90	95
[0340]	Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys		
[0341]	100	105	
[0342]	<210> 22		
[0343]	<211> 598		
[0344]	<212> PRT		
[0345]	<213> 人工序列		
[0346]	<220>		
[0347]	<223> CEA IL2v HC		
[0348]	<400> 22		
[0349]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala		
[0350]	1	5	10 15

[0351]	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Glu	Phe
[0352]				20					25					30		
[0353]	Gly	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
[0354]			35					40					45			
[0355]	Gly	Trp	Ile	Asn	Thr	Lys	Thr	Gly	Glu	Ala	Thr	Tyr	Val	Glu	Glu	Phe
[0356]		50					55					60				
[0357]	Lys	Gly	Arg	Val	Thr	Phe	Thr	Thr	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr
[0358]	65					70					75					80
[0359]	Met	Glu	Leu	Arg	Ser	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
[0360]				85						90					95	
[0361]	Ala	Arg	Trp	Asp	Phe	Ala	Tyr	Tyr	Val	Glu	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly
[0362]				100					105					110		
[0363]	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser
[0364]				115					120					125		
[0365]	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala
[0366]		130						135					140			
[0367]	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val
[0368]	145					150					155					160
[0369]	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala
[0370]				165						170					175	
[0371]	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val
[0372]				180						185				190		
[0373]	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His
[0374]			195					200					205			
[0375]	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys
[0376]		210					215					220				
[0377]	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly
[0378]	225					230					235					240
[0379]	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met
[0380]				245						250					255	
[0381]	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His
[0382]				260					265					270		
[0383]	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val
[0384]			275					280					285			
[0385]	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr
[0386]		290						295					300			
[0387]	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly
[0388]	305					310					315					320
[0389]	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile

[0390]		325		330		335
[0391]	Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val					
[0392]		340		345		350
[0393]	Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser					
[0394]		355		360		365
[0395]	Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu					
[0396]		370		375		380
[0397]	Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro					
[0398]	385		390		395	400
[0399]	Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val					
[0400]		405		410		415
[0401]	Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met					
[0402]		420		425		430
[0403]	His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser					
[0404]		435		440		445
[0405]	Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly					
[0406]		450		455		460
[0407]	Ser Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu					
[0408]	465		470		475	480
[0409]	His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr					
[0410]		485		490		495
[0411]	Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro					
[0412]		500		505		510
[0413]	Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu					
[0414]		515		520		525
[0415]	Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His					
[0416]		530		535		540
[0417]	Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu					
[0418]	545		550		555	560
[0419]	Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr					
[0420]		565		570		575
[0421]	Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser					
[0422]		580		585		590
[0423]	Ile Ile Ser Thr Leu Thr					
[0424]		595				
[0425]	<210> 23					
[0426]	<211> 451					
[0427]	<212> PRT					
[0428]	<213> 人工序列					

[0429]	<220>	
[0430]	<223> CEA HC	
[0431]	<400> 23	
[0432]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala	
[0433]	1 5 10 15	
[0434]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Phe	
[0435]	20 25 30	
[0436]	Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met	
[0437]	35 40 45	
[0438]	Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe	
[0439]	50 55 60	
[0440]	Lys Gly Arg Val Thr Phe Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr	
[0441]	65 70 75 80	
[0442]	Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
[0443]	85 90 95	
[0444]	Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly	
[0445]	100 105 110	
[0446]	Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser	
[0447]	115 120 125	
[0448]	Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala	
[0449]	130 135 140	
[0450]	Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val	
[0451]	145 150 155 160	
[0452]	Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala	
[0453]	165 170 175	
[0454]	Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val	
[0455]	180 185 190	
[0456]	Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His	
[0457]	195 200 205	
[0458]	Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys	
[0459]	210 215 220	
[0460]	Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly	
[0461]	225 230 235 240	
[0462]	Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met	
[0463]	245 250 255	
[0464]	Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His	
[0465]	260 265 270	
[0466]	Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val	
[0467]	275 280 285	

[0468]	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr
[0469]	290						295					300				
[0470]	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly
[0471]	305					310					315				320	
[0472]	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile
[0473]					325					330					335	
[0474]	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val
[0475]				340					345					350		
[0476]	Cys	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser
[0477]			355				360						365			
[0478]	Leu	Ser	Cys	Ala	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu
[0479]	370					375					380					
[0480]	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro
[0481]	385					390					395				400	
[0482]	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val
[0483]					405					410					415	
[0484]	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met
[0485]				420					425					430		
[0486]	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser
[0487]			435					440					445			
[0488]	Pro	Gly	Lys													
[0489]	450															
[0490]	<210>	24														
[0491]	<211>	215														
[0492]	<212>	PRT														
[0493]	<213>	人工序列														
[0494]	<220>															
[0495]	<223>	CEA LC														
[0496]	<400>	24														
[0497]	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
[0498]	1				5					10					15	
[0499]	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Ala	Ala	Val	Gly	Thr	Tyr
[0500]				20					25					30		
[0501]	Val	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
[0502]				35				40					45			
[0503]	Tyr	Ser	Ala	Ser	Tyr	Arg	Lys	Arg	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
[0504]		50					55					60				
[0505]	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
[0506]	65					70					75				80	

[0507]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Tyr Thr Tyr Pro Leu
[0508]	85 90 95
[0509]	Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
[0510]	100 105 110
[0511]	Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
[0512]	115 120 125
[0513]	Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
[0514]	130 135 140
[0515]	Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
[0516]	145 150 155 160
[0517]	Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
[0518]	165 170 175
[0519]	Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
[0520]	180 185 190
[0521]	Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
[0522]	195 200 205
[0523]	Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
[0524]	210 215
[0525]	<210> 25
[0526]	<211> 117
[0527]	<212> PRT
[0528]	<213> 人工序列
[0529]	<220>
[0530]	<223> FAP VH
[0531]	<400> 25
[0532]	Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[0533]	1 5 10 15
[0534]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
[0535]	20 25 30
[0536]	Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[0537]	35 40 45
[0538]	Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
[0539]	50 55 60
[0540]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
[0541]	65 70 75 80
[0542]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[0543]	85 90 95
[0544]	Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
[0545]	100 105 110

[0546] Val Thr Val Ser Ser
 [0547] 115
 [0548] <210> 26
 [0549] <211> 108
 [0550] <212> PRT
 [0551] <213> 人工序列
 [0552] <220>
 [0553] <223> FAP VL
 [0554] <400> 26
 [0555] Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 [0556] 1 5 10 15
 [0557] Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
 [0558] 20 25 30
 [0559] Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 [0560] 35 40 45
 [0561] Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 [0562] 50 55 60
 [0563] Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 [0564] 65 70 75 80
 [0565] Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
 [0566] 85 90 95
 [0567] Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 [0568] 100 105
 [0569] <210> 27
 [0570] <211> 594
 [0571] <212> PRT
 [0572] <213> 人工序列
 [0573] <220>
 [0574] <223> FAP IL2v HC
 [0575] <400> 27
 [0576] Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 [0577] 1 5 10 15
 [0578] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 [0579] 20 25 30
 [0580] Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 [0581] 35 40 45
 [0582] Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 [0583] 50 55 60
 [0584] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

[0585]	65	70	75	80
[0586]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
[0587]		85	90	95
[0588]	Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu			
[0589]		100	105	110
[0590]	Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu			
[0591]		115	120	125
[0592]	Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys			
[0593]		130	135	140
[0594]	Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser			
[0595]		145	150	155
[0596]	Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser			
[0597]		165	170	175
[0598]	Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser			
[0599]		180	185	190
[0600]	Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn			
[0601]		195	200	205
[0602]	Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His			
[0603]		210	215	220
[0604]	Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val			
[0605]		225	230	235
[0606]	Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr			
[0607]		245	250	255
[0608]	Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu			
[0609]		260	265	270
[0610]	Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys			
[0611]		275	280	285
[0612]	Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser			
[0613]		290	295	300
[0614]	Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys			
[0615]		305	310	315
[0616]	Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile			
[0617]		325	330	335
[0618]	Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro			
[0619]		340	345	350
[0620]	Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu			
[0621]		355	360	365
[0622]	Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn			
[0623]		370	375	380

[0624]	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser
[0625]	385					390					395					400
[0626]	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg
[0627]					405					410						415
[0628]	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu
[0629]				420					425					430		
[0630]	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Gly	Gly
[0631]			435					440					445			
[0632]	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ala	Pro	Ala
[0633]		450					455					460				
[0634]	Ser	Ser	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Glu	His	Leu	Leu	Leu
[0635]	465					470					475					480
[0636]	Asp	Leu	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr	Lys	Asn	Pro	Lys
[0637]					485					490						495
[0638]	Leu	Thr	Arg	Met	Leu	Thr	Ala	Lys	Phe	Ala	Met	Pro	Lys	Lys	Ala	Thr
[0639]				500					505					510		
[0640]	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys	Pro	Leu	Glu
[0641]			515					520					525			
[0642]	Glu	Val	Leu	Asn	Gly	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu	Arg	Pro	Arg
[0643]		530					535					540				
[0644]	Asp	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu	Lys	Gly	Ser
[0645]	545					550					555					560
[0646]	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala	Thr	Ile	Val
[0647]					565					570					575	
[0648]	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Ala	Gln	Ser	Ile	Ile	Ser	Thr
[0649]				580					585					590		
[0650]	Leu	Thr														
[0651]	<210>	28														
[0652]	<211>	447														
[0653]	<212>	PRT														
[0654]	<213>	人工序列														
[0655]	<220>															
[0656]	<223>	FAP HC														
[0657]	<400>	28														
[0658]	Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
[0659]	1				5					10				15		
[0660]	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
[0661]				20					25					30		
[0662]	Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val

[0663]	35	40	45
[0664]	Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val		
[0665]	50	55	60
[0666]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr		
[0667]	65	70	75
[0668]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
[0669]	85	90	95
[0670]	Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu		
[0671]	100	105	110
[0672]	Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu		
[0673]	115	120	125
[0674]	Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys		
[0675]	130	135	140
[0676]	Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser		
[0677]	145	150	155
[0678]	Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser		
[0679]	165	170	175
[0680]	Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser		
[0681]	180	185	190
[0682]	Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn		
[0683]	195	200	205
[0684]	Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His		
[0685]	210	215	220
[0686]	Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val		
[0687]	225	230	235
[0688]	Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr		
[0689]	245	250	255
[0690]	Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu		
[0691]	260	265	270
[0692]	Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys		
[0693]	275	280	285
[0694]	Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser		
[0695]	290	295	300
[0696]	Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys		
[0697]	305	310	315
[0698]	Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile		
[0699]	325	330	335
[0700]	Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro		
[0701]	340	345	350

[0702]	Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala
[0703]	355 360 365
[0704]	Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
[0705]	370 375 380
[0706]	Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
[0707]	385 390 395 400
[0708]	Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
[0709]	405 410 415
[0710]	Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
[0711]	420 425 430
[0712]	His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[0713]	435 440 445
[0714]	<210> 29
[0715]	<211> 215
[0716]	<212> PRT
[0717]	<213> 人工序列
[0718]	<220>
[0719]	<223> FAP LC
[0720]	<400> 29
[0721]	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
[0722]	1 5 10 15
[0723]	Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
[0724]	20 25 30
[0725]	Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
[0726]	35 40 45
[0727]	Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
[0728]	50 55 60
[0729]	Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
[0730]	65 70 75 80
[0731]	Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
[0732]	85 90 95
[0733]	Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
[0734]	100 105 110
[0735]	Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
[0736]	115 120 125
[0737]	Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
[0738]	130 135 140
[0739]	Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
[0740]	145 150 155 160

[0741]	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu
[0742]						165				170					175	
[0743]	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val
[0744]						180				185					190	
[0745]	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys
[0746]						195				200				205		
[0747]	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys									
[0748]						210				215						
[0749]	<210>	30														
[0750]	<211>	225														
[0751]	<212>	PRT														
[0752]	<213>	人(Homo sapiens)														
[0753]	<400>	30														
[0754]	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly
[0755]	1				5					10					15	
[0756]	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met
[0757]					20					25				30		
[0758]	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His
[0759]					35				40				45			
[0760]	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val
[0761]		50					55					60				
[0762]	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr
[0763]	65					70					75				80	
[0764]	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly
[0765]					85					90				95		
[0766]	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile
[0767]					100					105				110		
[0768]	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val
[0769]					115					120				125		
[0770]	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser
[0771]		130					135					140				
[0772]	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu
[0773]	145					150					155				160	
[0774]	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro
[0775]					165					170				175		
[0776]	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val
[0777]					180					185				190		
[0778]	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met
[0779]					195					200				205		

[0780] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 [0781] 210 215 220
 [0782] Pro
 [0783] 225
 [0784] <210> 31
 [0785] <211> 20
 [0786] <212> PRT
 [0787] <213> 人(Homo sapiens)
 [0788] <400> 31
 [0789] Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu
 [0790] 1 5 10 15
 [0791] Val Thr Asn Ser
 [0792] 20
 [0793] <210> 32
 [0794] <211> 5
 [0795] <212> PRT
 [0796] <213> 人工序列
 [0797] <220>
 [0798] <223> CD3 HCDR1
 [0799] <400> 32
 [0800] Thr Tyr Ala Met Asn
 [0801] 1 5
 [0802] <210> 33
 [0803] <211> 19
 [0804] <212> PRT
 [0805] <213> 人工序列
 [0806] <220>
 [0807] <223> CD3 HCDR2
 [0808] <400> 33
 [0809] Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
 [0810] 1 5 10 15
 [0811] Val Lys Gly
 [0812] <210> 34
 [0813] <211> 14
 [0814] <212> PRT
 [0815] <213> 人工序列
 [0816] <220>
 [0817] <223> CD3 HCDR3
 [0818] <400> 34

[0819]	His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr
[0820]	1 5 10
[0821]	<210> 35
[0822]	<211> 14
[0823]	<212> PRT
[0824]	<213> 人工序列
[0825]	<220>
[0826]	<223> CD3 LCDR1
[0827]	<400> 35
[0828]	Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn
[0829]	1 5 10
[0830]	<210> 36
[0831]	<211> 7
[0832]	<212> PRT
[0833]	<213> 人工序列
[0834]	<220>
[0835]	<223> CD3 LCDR2
[0836]	<400> 36
[0837]	Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro
[0838]	1 5
[0839]	<210> 37
[0840]	<211> 9
[0841]	<212> PRT
[0842]	<213> 人工序列
[0843]	<220>
[0844]	<223> CD3 LCDR3
[0845]	<400> 37
[0846]	Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val
[0847]	1 5
[0848]	<210> 38
[0849]	<211> 125
[0850]	<212> PRT
[0851]	<213> 人工序列
[0852]	<220>
[0853]	<223> CD3 VH
[0854]	<400> 38
[0855]	Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[0856]	1 5 10 15
[0857]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr

130

[0897]	<223> CEA CD3 bsAb LC (CEA)															
[0898]	<400> 40															
[0899]	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
[0900]	1				5					10					15	
[0901]	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Ala	Ala	Val	Gly	Thr	Tyr
[0902]				20					25					30		
[0903]	Val	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
[0904]				35					40					45		
[0905]	Tyr	Ser	Ala	Ser	Tyr	Arg	Lys	Arg	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
[0906]		50					55					60				
[0907]	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
[0908]	65					70					75				80	
[0909]	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	His	Gln	Tyr	Tyr	Thr	Tyr	Pro	Leu
[0910]					85					90					95	
[0911]	Phe	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala
[0912]				100					105					110		
[0913]	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser
[0914]				115					120					125		
[0915]	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu
[0916]		130					135					140				
[0917]	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser
[0918]	145					150					155				160	
[0919]	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu
[0920]				165						170				175		
[0921]	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val
[0922]				180						185				190		
[0923]	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys
[0924]			195					200					205			
[0925]	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys									
[0926]		210					215									
[0927]	<210> 41															
[0928]	<211> 214															
[0929]	<212> PRT															
[0930]	<213> 人工序列															
[0931]	<220>															
[0932]	<223> CEA CD3 bsAb LC (CD3)															
[0933]	<400> 41															
[0934]	Gln	Ala	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr	Val	Ser	Pro	Gly	Gly
[0935]	1				5					10					15	

[0936]	Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser		
[0937]	20	25	30
[0938]	Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly		
[0939]	35	40	45
[0940]	Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe		
[0941]	50	55	60
[0942]	Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala		
[0943]	65	70	75
[0944]	Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn		
[0945]	85	90	95
[0946]	Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Ser Ala		
[0947]	100	105	110
[0948]	Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser		
[0949]	115	120	125
[0950]	Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe		
[0951]	130	135	140
[0952]	Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly		
[0953]	145	150	155
[0954]	Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu		
[0955]	165	170	175
[0956]	Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr		
[0957]	180	185	190
[0958]	Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys		
[0959]	195	200	205
[0960]	Val Glu Pro Lys Ser Cys		
[0961]	210		
[0962]	<210> 42		
[0963]	<211> 694		
[0964]	<212> PRT		
[0965]	<213> 人工序列		
[0966]	<220>		
[0967]	<223> CEA CD3 bsAB HC (CEA-CD3-Fc)		
[0968]	<400> 42		
[0969]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala		
[0970]	1	5	10
[0971]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Phe		
[0972]	20	25	30
[0973]	Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met		
[0974]	35	40	45

[0975]	Gly	Trp	Ile	Asn	Thr	Lys	Thr	Gly	Glu	Ala	Thr	Tyr	Val	Glu	Glu	Phe
[0976]	50						55					60				
[0977]	Lys	Gly	Arg	Val	Thr	Phe	Thr	Thr	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr
[0978]	65					70					75					80
[0979]	Met	Glu	Leu	Arg	Ser	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
[0980]					85					90					95	
[0981]	Ala	Arg	Trp	Asp	Phe	Ala	Tyr	Tyr	Val	Glu	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly
[0982]					100					105					110	
[0983]	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser
[0984]					115					120					125	
[0985]	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala
[0986]					130					135					140	
[0987]	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val
[0988]	145						150					155				160
[0989]	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala
[0990]					165						170					175
[0991]	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val
[0992]					180						185				190	
[0993]	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His
[0994]					195						200				205	
[0995]	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys
[0996]					210						215				220	
[0997]	Asp	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Leu
[0998]	225						230					235				240
[0999]	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser
[1000]					245						250					255
[1001]	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Thr	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	Val
[1002]					260						265				270	
[1003]	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ser	Arg	Ile	Arg	Ser
[1004]					275						280				285	
[1005]	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg
[1006]					290						295				300	
[1007]	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met
[1008]	305						310					315				320
[1009]	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg	His
[1010]					325						330				335	
[1011]	Gly	Asn	Phe	Gly	Asn	Ser	Tyr	Val	Ser	Trp	Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln
[1012]					340						345				350	
[1013]	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val

[1014]	355	360	365
[1015]	Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser		
[1016]	370	375	380
[1017]	Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln		
[1018]	385	390	395
[1019]	Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val		
[1020]	405	410	415
[1021]	Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu		
[1022]	420	425	430
[1023]	Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu		
[1024]	435	440	445
[1025]	Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg		
[1026]	450	455	460
[1027]	Gly Glu Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu		
[1028]	465	470	475
[1029]	Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp		
[1030]	485	490	495
[1031]	Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp		
[1032]	500	505	510
[1033]	Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly		
[1034]	515	520	525
[1035]	Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn		
[1036]	530	535	540
[1037]	Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp		
[1038]	545	550	555
[1039]	Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly		
[1040]	565	570	575
[1041]	Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu		
[1042]	580	585	590
[1043]	Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn		
[1044]	595	600	605
[1045]	Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile		
[1046]	610	615	620
[1047]	Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr		
[1048]	625	630	635
[1049]	Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys		
[1050]	645	650	655
[1051]	Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys		
[1052]	660	665	670

[1053]	Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
[1054]	675 680 685
[1055]	Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[1056]	690
[1057]	<210> 43
[1058]	<211> 451
[1059]	<212> PRT
[1060]	<213> 人工序列
[1061]	<220>
[1062]	<223> CEA CD3 bsAB HC (CEA-Fc)
[1063]	<400> 43
[1064]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
[1065]	1 5 10 15
[1066]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Phe
[1067]	20 25 30
[1068]	Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
[1069]	35 40 45
[1070]	Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe
[1071]	50 55 60
[1072]	Lys Gly Arg Val Thr Phe Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
[1073]	65 70 75 80
[1074]	Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[1075]	85 90 95
[1076]	Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly
[1077]	100 105 110
[1078]	Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
[1079]	115 120 125
[1080]	Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
[1081]	130 135 140
[1082]	Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
[1083]	145 150 155 160
[1084]	Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
[1085]	165 170 175
[1086]	Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
[1087]	180 185 190
[1088]	Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
[1089]	195 200 205
[1090]	Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
[1091]	210 215 220

[1092]	Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
[1093]	225 230 235 240
[1094]	Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[1095]	245 250 255
[1096]	Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[1097]	260 265 270
[1098]	Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[1099]	275 280 285
[1100]	His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[1101]	290 295 300
[1102]	Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[1103]	305 310 315 320
[1104]	Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile
[1105]	325 330 335
[1106]	Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[1107]	340 345 350
[1108]	Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
[1109]	355 360 365
[1110]	Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[1111]	370 375 380
[1112]	Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[1113]	385 390 395 400
[1114]	Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
[1115]	405 410 415
[1116]	Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
[1117]	420 425 430
[1118]	His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[1119]	435 440 445
[1120]	Pro Gly Lys
[1121]	450
[1122]	<210> 44
[1123]	<211> 672
[1124]	<212> PRT
[1125]	<213> 人工序列
[1126]	<220>
[1127]	<223> CD20 VH-CH1 (EE) -CD3 VL-CH1-Fc (节, P329G LALA)
[1128]	<400> 44
[1129]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
[1130]	1 5 10 15

[1131]	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ala	Phe	Ser	Tyr	Ser
[1132]				20					25					30		
[1133]	Trp	Ile	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
[1134]				35				40						45		
[1135]	Gly	Arg	Ile	Phe	Pro	Gly	Asp	Gly	Asp	Thr	Asp	Tyr	Asn	Gly	Lys	Phe
[1136]		50					55					60				
[1137]	Lys	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr
[1138]	65					70					75					80
[1139]	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
[1140]					85					90					95	
[1141]	Ala	Arg	Asn	Val	Phe	Asp	Gly	Tyr	Trp	Leu	Val	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly
[1142]				100					105					110		
[1143]	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
[1144]				115				120						125		
[1145]	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu
[1146]		130					135					140				
[1147]	Gly	Cys	Leu	Val	Glu	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp
[1148]	145					150					155					160
[1149]	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu
[1150]					165					170					175	
[1151]	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser
[1152]				180						185					190	
[1153]	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro
[1154]			195					200					205			
[1155]	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Glu	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Gly
[1156]		210					215					220				
[1157]	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Ala	Val	Val	Thr	Gln	Glu
[1158]	225					230					235					240
[1159]	Pro	Ser	Leu	Thr	Val	Ser	Pro	Gly	Gly	Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Gly
[1160]					245					250					255	
[1161]	Ser	Ser	Thr	Gly	Ala	Val	Thr	Thr	Ser	Asn	Tyr	Ala	Asn	Trp	Val	Gln
[1162]				260					265					270		
[1163]	Glu	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Phe	Arg	Gly	Leu	Ile	Gly	Gly	Thr	Asn	Lys
[1164]				275				280						285		
[1165]	Arg	Ala	Pro	Gly	Thr	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Leu	Leu	Gly	Gly
[1166]		290						295				300				
[1167]	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Leu	Ser	Gly	Ala	Gln	Pro	Glu	Asp	Glu	Ala	Glu
[1168]	305					310					315					320
[1169]	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn	Leu	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly

[1170]					325				330				335							
[1171]	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val				
[1172]					340				345				350							
[1173]	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala				
[1174]					355				360				365							
[1175]	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser				
[1176]					370				375				380							
[1177]	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val				
[1178]	385								390								400			
[1179]	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro				
[1180]					405								410				415			
[1181]	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys				
[1182]					420								425				430			
[1183]	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp				
[1184]					435								440				445			
[1185]	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly				
[1186]					450								455				460			
[1187]	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile				
[1188]	465								470								475		480	
[1189]	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu				
[1190]					485								490				495			
[1191]	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His				
[1192]					500								505				510			
[1193]	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg				
[1194]					515								520				525			
[1195]	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys				
[1196]					530								535				540			
[1197]	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu				
[1198]	545								550								555		560	
[1199]	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr				
[1200]					565								570				575			
[1201]	Thr	Leu	Pro	Pro	Cys	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu				
[1202]					580								585				590			
[1203]	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp				
[1204]					595								600				605			
[1205]	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val				
[1206]					610								615				620			
[1207]	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp				
[1208]	625								630								635		640	

[1209]	Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
[1210]	645 650 655
[1211]	Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
[1212]	660 665 670
[1213]	<210> 45
[1214]	<211> 447
[1215]	<212> PRT
[1216]	<213> 人工序列
[1217]	<220>
[1218]	<223> CD20 VH-CH1 (EE) -Fc (穴, P329G LALA)
[1219]	<400> 45
[1220]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
[1221]	1 5 10 15
[1222]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Tyr Ser
[1223]	20 25 30
[1224]	Trp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
[1225]	35 40 45
[1226]	Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
[1227]	50 55 60
[1228]	Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
[1229]	65 70 75 80
[1230]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[1231]	85 90 95
[1232]	Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly
[1233]	100 105 110
[1234]	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
[1235]	115 120 125
[1236]	Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
[1237]	130 135 140
[1238]	Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
[1239]	145 150 155 160
[1240]	Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
[1241]	165 170 175
[1242]	Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
[1243]	180 185 190
[1244]	Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
[1245]	195 200 205
[1246]	Ser Asn Thr Lys Val Asp Glu Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
[1247]	210 215 220

[1248]	Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro		
[1249]	225	230	235 240
[1250]	Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser		
[1251]		245	250 255
[1252]	Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp		
[1253]		260	265 270
[1254]	Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn		
[1255]		275	280 285
[1256]	Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val		
[1257]		290	295 300
[1258]	Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu		
[1259]	305	310	315 320
[1260]	Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys		
[1261]		325	330 335
[1262]	Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr		
[1263]		340	345 350
[1264]	Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser		
[1265]		355	360 365
[1266]	Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu		
[1267]		370	375 380
[1268]	Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu		
[1269]	385	390	395 400
[1270]	Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys		
[1271]		405	410 415
[1272]	Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu		
[1273]		420	425 430
[1274]	Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro		
[1275]		435	440 445
[1276]	<210> 46		
[1277]	<211> 219		
[1278]	<212> PRT		
[1279]	<213> 人工序列		
[1280]	<220>		
[1281]	<223> CD20 VL-CL (RK)		
[1282]	<400> 46		
[1283]	Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly		
[1284]	1	5	10 15
[1285]	Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser		
[1286]		20	25 30

[1287]	Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
[1288]	35 40 45
[1289]	Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn Leu Val Ser Gly Val Pro
[1290]	50 55 60
[1291]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
[1292]	65 70 75 80
[1293]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Asn
[1294]	85 90 95
[1295]	Leu Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
[1296]	100 105 110
[1297]	Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Arg
[1298]	115 120 125
[1299]	Lys Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
[1300]	130 135 140
[1301]	Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
[1302]	145 150 155 160
[1303]	Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
[1304]	165 170 175
[1305]	Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
[1306]	180 185 190
[1307]	Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
[1308]	195 200 205
[1309]	Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
[1310]	210 215
[1311]	<210> 47
[1312]	<211> 232
[1313]	<212> PRT
[1314]	<213> 人工序列
[1315]	<220>
[1316]	<223> CD3 VH-CL
[1317]	<400> 47
[1318]	Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[1319]	1 5 10 15
[1320]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
[1321]	20 25 30
[1322]	Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[1323]	35 40 45
[1324]	Ser Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
[1325]	50 55 60

[1326]	Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
[1327]	65 70 75 80
[1328]	Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
[1329]	85 90 95
[1330]	Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
[1331]	100 105 110
[1332]	Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Val
[1333]	115 120 125
[1334]	Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys
[1335]	130 135 140
[1336]	Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg
[1337]	145 150 155 160
[1338]	Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn
[1339]	165 170 175
[1340]	Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser
[1341]	180 185 190
[1342]	Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys
[1343]	195 200 205
[1344]	Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
[1345]	210 215 220
[1346]	Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
[1347]	225 230
[1348]	<210> 48
[1349]	<211> 5
[1350]	<212> PRT
[1351]	<213> 人工序列
[1352]	<220>
[1353]	<223> CD19 HCDR1
[1354]	<400> 48
[1355]	Asp Tyr Ile Met His
[1356]	1 5
[1357]	<210> 49
[1358]	<211> 17
[1359]	<212> PRT
[1360]	<213> 人工序列
[1361]	<220>
[1362]	<223> CD19 HCDR2
[1363]	<400> 49
[1364]	Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Lys Tyr Thr Glu Lys Phe Gln

[1365]	1	5	10	15
[1366]	Gly			
[1367]	<210> 50			
[1368]	<211> 12			
[1369]	<212> PRT			
[1370]	<213> 人工序列			
[1371]	<220>			
[1372]	<223> CD19 HCDR3			
[1373]	<400> 50			
[1374]	Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ala Leu Phe Asp Tyr			
[1375]	1	5	10	
[1376]	<210> 51			
[1377]	<211> 16			
[1378]	<212> PRT			
[1379]	<213> 人工序列			
[1380]	<220>			
[1381]	<223> CD19 LCDR1			
[1382]	<400> 51			
[1383]	Lys Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Pro Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Asn			
[1384]	1	5	10	15
[1385]	<210> 52			
[1386]	<211> 7			
[1387]	<212> PRT			
[1388]	<213> 人工序列			
[1389]	<220>			
[1390]	<223> CD19 LCDR2			
[1391]	<400> 52			
[1392]	Arg Val Ser Lys Arg Phe Ser			
[1393]	1	5		
[1394]	<210> 53			
[1395]	<211> 9			
[1396]	<212> PRT			
[1397]	<213> 人工序列			
[1398]	<220>			
[1399]	<223> CD19 LCDR3			
[1400]	<400> 53			
[1401]	Leu Gln Leu Thr His Val Pro Tyr Thr			
[1402]	1	5		
[1403]	<210> 54			

[1404]	<211>	121
[1405]	<212>	PRT
[1406]	<213>	人工序列
[1407]	<220>	
[1408]	<223>	CD19 VH
[1409]	<400>	54
[1410]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala	
[1411]	1	5 10 15
[1412]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr	
[1413]	20	25 30
[1414]	Ile Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met	
[1415]	35	40 45
[1416]	Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Lys Tyr Thr Glu Lys Phe	
[1417]	50	55 60
[1418]	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr	
[1419]	65	70 75 80
[1420]	Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
[1421]	85	90 95
[1422]	Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ala Leu Phe Asp Tyr Trp Gly	
[1423]	100	105 110
[1424]	Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser	
[1425]	115	120
[1426]	<210>	55
[1427]	<211>	112
[1428]	<212>	PRT
[1429]	<213>	人工序列
[1430]	<220>	
[1431]	<223>	CD19 VL
[1432]	<400>	55
[1433]	Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly	
[1434]	1	5 10 15
[1435]	Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Pro	
[1436]	20	25 30
[1437]	Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser	
[1438]	35	40 45
[1439]	Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Lys Arg Phe Ser Gly Val Pro	
[1440]	50	55 60
[1441]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile	
[1442]	65	70 75 80

[1443]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Leu
[1444]	85 90 95
[1445]	Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
[1446]	100 105 110
[1447]	<210> 56
[1448]	<211> 449
[1449]	<212> PRT
[1450]	<213> 人工序列
[1451]	<220>
[1452]	<223> CD19 VH-CH1 (EE) -Fc (穴, P329G LALA)
[1453]	<400> 56
[1454]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
[1455]	1 5 10 15
[1456]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
[1457]	20 25 30
[1458]	Ile Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
[1459]	35 40 45
[1460]	Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Lys Tyr Thr Glu Lys Phe
[1461]	50 55 60
[1462]	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
[1463]	65 70 75 80
[1464]	Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[1465]	85 90 95
[1466]	Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ala Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
[1467]	100 105 110
[1468]	Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
[1469]	115 120 125
[1470]	Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
[1471]	130 135 140
[1472]	Ala Leu Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
[1473]	145 150 155 160
[1474]	Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
[1475]	165 170 175
[1476]	Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
[1477]	180 185 190
[1478]	Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
[1479]	195 200 205
[1480]	Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Glu Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
[1481]	210 215 220

[1482]	Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
[1483]	225 230 235 240
[1484]	Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[1485]	245 250 255
[1486]	Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[1487]	260 265 270
[1488]	Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[1489]	275 280 285
[1490]	His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[1491]	290 295 300
[1492]	Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[1493]	305 310 315 320
[1494]	Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile
[1495]	325 330 335
[1496]	Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[1497]	340 345 350
[1498]	Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
[1499]	355 360 365
[1500]	Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[1501]	370 375 380
[1502]	Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[1503]	385 390 395 400
[1504]	Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
[1505]	405 410 415
[1506]	Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
[1507]	420 425 430
[1508]	His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[1509]	435 440 445
[1510]	Pro
[1511]	<210> 57
[1512]	<211> 674
[1513]	<212> PRT
[1514]	<213> 人工序列
[1515]	<220>
[1516]	<223> CD19 VH-CH1 (EE) -CD3 VL-CH1-Fc (节, P329G LALA)
[1517]	<400> 57
[1518]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
[1519]	1 5 10 15
[1520]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

[1521]	20							25							30					
[1522]	Ile	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met				
[1523]	35							40							45					
[1524]	Gly	Tyr	Ile	Asn	Pro	Tyr	Asn	Asp	Gly	Ser	Lys	Tyr	Thr	Glu	Lys	Phe				
[1525]	50							55							60					
[1526]	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Ser	Asp	Thr	Ser	Ile	Ser	Thr	Ala	Tyr				
[1527]	65							70							75				80	
[1528]	Met	Glu	Leu	Ser	Arg	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys				
[1529]	85							90							95					
[1530]	Ala	Arg	Gly	Thr	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Ser	Ala	Leu	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly				
[1531]	100							105							110					
[1532]	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser				
[1533]	115							120							125					
[1534]	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala				
[1535]	130							135							140					
[1536]	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Glu	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val				
[1537]	145							150							155				160	
[1538]	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala				
[1539]	165							170							175					
[1540]	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val				
[1541]	180							185							190					
[1542]	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His				
[1543]	195							200							205					
[1544]	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Glu	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys				
[1545]	210							215							220					
[1546]	Asp	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Ala	Val	Val	Thr				
[1547]	225							230							235				240	
[1548]	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr	Val	Ser	Pro	Gly	Gly	Thr	Val	Thr	Leu	Thr				
[1549]	245							250							255					
[1550]	Cys	Gly	Ser	Ser	Thr	Gly	Ala	Val	Thr	Thr	Ser	Asn	Tyr	Ala	Asn	Trp				
[1551]	260							265							270					
[1552]	Val	Gln	Glu	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Phe	Arg	Gly	Leu	Ile	Gly	Gly	Thr				
[1553]	275							280							285					
[1554]	Asn	Lys	Arg	Ala	Pro	Gly	Thr	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Leu	Leu				
[1555]	290							295							300					
[1556]	Gly	Gly	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Leu	Ser	Gly	Ala	Gln	Pro	Glu	Asp	Glu				
[1557]	305							310							315				320	
[1558]	Ala	Glu	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn	Leu	Trp	Val	Phe	Gly				
[1559]	325							330							335					

[1560]	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro
[1561]				340				345						350		
[1562]	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr
[1563]				355				360						365		
[1564]	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr
[1565]				370				375						380		
[1566]	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro
[1567]	385					390					395					400
[1568]	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr
[1569]				405						410					415	
[1570]	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn
[1571]				420						425				430		
[1572]	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser
[1573]				435				440						445		
[1574]	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala
[1575]				450				455						460		
[1576]	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu
[1577]	465					470					475					480
[1578]	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser
[1579]				485						490					495	
[1580]	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu
[1581]				500						505				510		
[1582]	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr
[1583]				515						520				525		
[1584]	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn
[1585]				530				535						540		
[1586]	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro
[1587]	545					550					555					560
[1588]	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln
[1589]				565						570					575	
[1590]	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Cys	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val
[1591]				580						585				590		
[1592]	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val
[1593]				595				600						605		
[1594]	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro
[1595]				610				615						620		
[1596]	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr
[1597]	625					630					635					640
[1598]	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val

[1599]		645		650		655
[1600]	Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu					
[1601]		660		665		670
[1602]	Ser Pro					
[1603]	<210> 58					
[1604]	<211> 219					
[1605]	<212> PRT					
[1606]	<213> 人工序列					
[1607]	<220>					
[1608]	<223> CD19 VL-CL (RK)					
[1609]	<400> 58					
[1610]	Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly					
[1611]	1	5		10		15
[1612]	Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Pro					
[1613]		20		25		30
[1614]	Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser					
[1615]		35		40		45
[1616]	Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Lys Arg Phe Ser Gly Val Pro					
[1617]		50		55		60
[1618]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile					
[1619]	65	70		75		80
[1620]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Leu					
[1621]		85		90		95
[1622]	Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys					
[1623]		100		105		110
[1624]	Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Arg					
[1625]		115		120		125
[1626]	Lys Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe					
[1627]		130		135		140
[1628]	Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln					
[1629]	145	150		155		160
[1630]	Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser					
[1631]		165		170		175
[1632]	Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu					
[1633]		180		185		190
[1634]	Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser					
[1635]		195		200		205
[1636]	Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys					
[1637]		210		215		

[1638]	<210>	59
[1639]	<211>	5
[1640]	<212>	PRT
[1641]	<213>	人工序列
[1642]	<220>	
[1643]	<223>	CD19 HCDR1
[1644]	<400>	59
[1645]	Asp Tyr Ile Met His	
[1646]	1	5
[1647]	<210>	60
[1648]	<211>	17
[1649]	<212>	PRT
[1650]	<213>	人工序列
[1651]	<220>	
[1652]	<223>	CD19 HCDR2
[1653]	<400>	60
[1654]	Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Lys Tyr Thr Glu Lys Phe Gln	
[1655]	1	5 10 15
[1656]	Gly	
[1657]	<210>	61
[1658]	<211>	12
[1659]	<212>	PRT
[1660]	<213>	人工序列
[1661]	<220>	
[1662]	<223>	CD19 HCDR3
[1663]	<400>	61
[1664]	Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Pro Gln Leu Phe Asp Tyr	
[1665]	1	5 10
[1666]	<210>	62
[1667]	<211>	16
[1668]	<212>	PRT
[1669]	<213>	人工序列
[1670]	<220>	
[1671]	<223>	CD19 LCDR1
[1672]	<400>	62
[1673]	Lys Ser Ser Gln Ser Leu Glu Thr Ser Thr Gly Thr Thr Tyr Leu Asn	
[1674]	1	5 10 15
[1675]	<210>	63
[1676]	<211>	7

[1677]	<212>	PRT
[1678]	<213>	人工序列
[1679]	<220>	
[1680]	<223>	CD19 LCDR2
[1681]	<400>	63
[1682]	Arg Val Ser Lys Arg Phe Ser	
[1683]	1	5
[1684]	<210>	64
[1685]	<211>	9
[1686]	<212>	PRT
[1687]	<213>	人工序列
[1688]	<220>	
[1689]	<223>	CD19 LCDR3
[1690]	<400>	64
[1691]	Leu Gln Leu Leu Glu Asp Pro Tyr Thr	
[1692]	1	5
[1693]	<210>	65
[1694]	<211>	121
[1695]	<212>	PRT
[1696]	<213>	人工序列
[1697]	<220>	
[1698]	<223>	CD19 VH
[1699]	<400>	65
[1700]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala	
[1701]	1	5 10 15
[1702]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr	
[1703]	20	25 30
[1704]	Ile Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met	
[1705]	35	40 45
[1706]	Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Lys Tyr Thr Glu Lys Phe	
[1707]	50	55 60
[1708]	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr	
[1709]	65	70 75 80
[1710]	Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
[1711]	85	90 95
[1712]	Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Pro Gln Leu Phe Asp Tyr Trp Gly	
[1713]	100	105 110
[1714]	Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser	
[1715]	115	120

[1716]	<210> 66
[1717]	<211> 112
[1718]	<212> PRT
[1719]	<213> 人工序列
[1720]	<220>
[1721]	<223> CD19 VL
[1722]	<400> 66
[1723]	Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
[1724]	1 5 10 15
[1725]	Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Glu Thr Ser
[1726]	20 25 30
[1727]	Thr Gly Thr Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
[1728]	35 40 45
[1729]	Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Lys Arg Phe Ser Gly Val Pro
[1730]	50 55 60
[1731]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
[1732]	65 70 75 80
[1733]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Leu
[1734]	85 90 95
[1735]	Leu Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
[1736]	100 105 110
[1737]	<210> 67
[1738]	<211> 5
[1739]	<212> PRT
[1740]	<213> 人工序列
[1741]	<220>
[1742]	<223> CD19 HCDR1
[1743]	<400> 67
[1744]	Asp Tyr Ile Met His
[1745]	1 5
[1746]	<210> 68
[1747]	<211> 17
[1748]	<212> PRT
[1749]	<213> 人工序列
[1750]	<220>
[1751]	<223> CD19 HCDR2
[1752]	<400> 68
[1753]	Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Lys Tyr Thr Glu Lys Phe Gln
[1754]	1 5 10 15

[1755]	Gly
[1756]	<210> 69
[1757]	<211> 12
[1758]	<212> PRT
[1759]	<213> 人工序列
[1760]	<220>
[1761]	<223> CD19 HCDR3
[1762]	<400> 69
[1763]	Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ala Leu Phe Asp Tyr
[1764]	1 5 10
[1765]	<210> 70
[1766]	<211> 16
[1767]	<212> PRT
[1768]	<213> 人工序列
[1769]	<220>
[1770]	<223> CD19 LCDR1
[1771]	<400> 70
[1772]	Lys Ser Ser Gln Ser Leu Glu Ser Ser Thr Gly Asn Thr Tyr Leu Asn
[1773]	1 5 10 15
[1774]	<210> 71
[1775]	<211> 7
[1776]	<212> PRT
[1777]	<213> 人工序列
[1778]	<220>
[1779]	<223> CD19 LCDR2
[1780]	<400> 71
[1781]	Arg Val Ser Lys Arg Phe Ser
[1782]	1 5
[1783]	<210> 72
[1784]	<211> 9
[1785]	<212> PRT
[1786]	<213> 人工序列
[1787]	<220>
[1788]	<223> CD19 LCDR3
[1789]	<400> 72
[1790]	Leu Gln Leu Ile Asp Tyr Pro Val Thr
[1791]	1 5
[1792]	<210> 73
[1793]	<211> 121

[1794]	<212>	PRT
[1795]	<213>	人工序列
[1796]	<220>	
[1797]	<223>	CD19 VH
[1798]	<400>	73
[1799]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala	
[1800]	1 5 10 15	
[1801]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr	
[1802]	20 25 30	
[1803]	Ile Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met	
[1804]	35 40 45	
[1805]	Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Lys Tyr Thr Glu Lys Phe	
[1806]	50 55 60	
[1807]	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr	
[1808]	65 70 75 80	
[1809]	Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
[1810]	85 90 95	
[1811]	Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ala Leu Phe Asp Tyr Trp Gly	
[1812]	100 105 110	
[1813]	Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser	
[1814]	115 120	
[1815]	<210>	74
[1816]	<211>	112
[1817]	<212>	PRT
[1818]	<213>	人工序列
[1819]	<220>	
[1820]	<223>	CD19 VL
[1821]	<400>	74
[1822]	Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly	
[1823]	1 5 10 15	
[1824]	Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Glu Ser Ser	
[1825]	20 25 30	
[1826]	Thr Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser	
[1827]	35 40 45	
[1828]	Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Lys Arg Phe Ser Gly Val Pro	
[1829]	50 55 60	
[1830]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile	
[1831]	65 70 75 80	
[1832]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Leu	

[1833]					85					90					95		
[1834]	Ile	Asp	Tyr	Pro	Val	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	
[1835]					100					105					110		
[1836]	<210>	75															
[1837]	<211>	5															
[1838]	<212>	PRT															
[1839]	<213>	人工序列															
[1840]	<220>																
[1841]	<223>	CD19	HCDR1														
[1842]	<400>	75															
[1843]	Asp	Tyr	Ile	Met	His												
[1844]	1				5												
[1845]	<210>	76															
[1846]	<211>	17															
[1847]	<212>	PRT															
[1848]	<213>	人工序列															
[1849]	<220>																
[1850]	<223>	CD19	HCDR2														
[1851]	<400>	76															
[1852]	Tyr	Ile	Asn	Pro	Tyr	Asn	Asp	Gly	Ser	Lys	Tyr	Thr	Glu	Lys	Phe	Gln	
[1853]	1				5					10					15		
[1854]	Gly																
[1855]	<210>	77															
[1856]	<211>	12															
[1857]	<212>	PRT															
[1858]	<213>	人工序列															
[1859]	<220>																
[1860]	<223>	CD19	HCDR3														
[1861]	<400>	77															
[1862]	Gly	Thr	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Ser	Glu	Leu	Phe	Asp	Tyr					
[1863]	1				5					10							
[1864]	<210>	78															
[1865]	<211>	16															
[1866]	<212>	PRT															
[1867]	<213>	人工序列															
[1868]	<220>																
[1869]	<223>	CD19	LCDR1														
[1870]	<400>	78															
[1871]	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Glu	Thr	Ser	Thr	Gly	Asn	Thr	Tyr	Leu	Asn	

[1872]	1	5	10	15
[1873]	<210> 79			
[1874]	<211> 7			
[1875]	<212> PRT			
[1876]	<213> 人工序列			
[1877]	<220>			
[1878]	<223> CD19 LCDR2			
[1879]	<400> 79			
[1880]	Arg Val Ser Lys Arg Phe Ser			
[1881]	1	5		
[1882]	<210> 80			
[1883]	<211> 9			
[1884]	<212> PRT			
[1885]	<213> 人工序列			
[1886]	<220>			
[1887]	<223> CD19 LCDR3			
[1888]	<400> 80			
[1889]	Leu Gln Ala Thr His Ile Pro Tyr Thr			
[1890]	1	5		
[1891]	<210> 81			
[1892]	<211> 121			
[1893]	<212> PRT			
[1894]	<213> 人工序列			
[1895]	<220>			
[1896]	<223> CD19 VH			
[1897]	<400> 81			
[1898]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala			
[1899]	1	5	10	15
[1900]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr			
[1901]		20	25	30
[1902]	Ile Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met			
[1903]		35	40	45
[1904]	Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Lys Tyr Thr Glu Lys Phe			
[1905]		50	55	60
[1906]	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr			
[1907]	65	70	75	80
[1908]	Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
[1909]		85	90	95
[1910]	Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Glu Leu Phe Asp Tyr Trp Gly			

[1911]	100	105	110
[1912]	Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser		
[1913]	115	120	
[1914]	<210> 82		
[1915]	<211> 112		
[1916]	<212> PRT		
[1917]	<213> 人工序列		
[1918]	<220>		
[1919]	<223> CD19 VL		
[1920]	<400> 82		
[1921]	Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly		
[1922]	1 5 10 15		
[1923]	Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Glu Thr Ser		
[1924]	20 25 30		
[1925]	Thr Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser		
[1926]	35 40 45		
[1927]	Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Lys Arg Phe Ser Gly Val Pro		
[1928]	50 55 60		
[1929]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile		
[1930]	65 70 75 80		
[1931]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Ala		
[1932]	85 90 95		
[1933]	Thr His Ile Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys		
[1934]	100 105 110		
[1935]	<210> 83		
[1936]	<211> 5		
[1937]	<212> PRT		
[1938]	<213> 人工序列		
[1939]	<220>		
[1940]	<223> CD19 HCDR1		
[1941]	<400> 83		
[1942]	Asp Tyr Ile Thr His		
[1943]	1 5		
[1944]	<210> 84		
[1945]	<211> 17		
[1946]	<212> PRT		
[1947]	<213> 人工序列		
[1948]	<220>		
[1949]	<223> CD19 HCDR2		

[1950]	<400> 84
[1951]	Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Lys Tyr Thr Glu Lys Phe Gln
[1952]	1 5 10 15
[1953]	Gly
[1954]	<210> 85
[1955]	<211> 12
[1956]	<212> PRT
[1957]	<213> 人工序列
[1958]	<220>
[1959]	<223> CD19 HCDR3
[1960]	<400> 85
[1961]	Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Pro Asp Leu Phe Asp Tyr
[1962]	1 5 10
[1963]	<210> 86
[1964]	<211> 16
[1965]	<212> PRT
[1966]	<213> 人工序列
[1967]	<220>
[1968]	<223> CD19 LCDR1
[1969]	<400> 86
[1970]	Lys Ser Ser Gln Ser Leu Glu Thr Ser Thr Gly Asn Thr Tyr Leu Asn
[1971]	1 5 10 15
[1972]	<210> 87
[1973]	<211> 7
[1974]	<212> PRT
[1975]	<213> 人工序列
[1976]	<220>
[1977]	<223> CD19 LCDR2
[1978]	<400> 87
[1979]	Arg Val Ser Lys Arg Phe Ser
[1980]	1 5
[1981]	<210> 88
[1982]	<211> 9
[1983]	<212> PRT
[1984]	<213> 人工序列
[1985]	<220>
[1986]	<223> CD19 LCDR3
[1987]	<400> 88
[1988]	Leu Gln Leu Thr His Val Pro Tyr Thr

[1989]	1	5														
[1990]	<210>	89														
[1991]	<211>	121														
[1992]	<212>	PRT														
[1993]	<213>	人工序列														
[1994]	<220>															
[1995]	<223>	CD19 VH														
[1996]	<400>	89														
[1997]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala															
[1998]	1	5	10	15												
[1999]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr															
[2000]		20	25	30												
[2001]	Ile Thr His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met															
[2002]		35	40	45												
[2003]	Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Lys Tyr Thr Glu Lys Phe															
[2004]		50	55	60												
[2005]	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr															
[2006]	65	70	75	80												
[2007]	Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys															
[2008]		85	90	95												
[2009]	Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Pro Asp Leu Phe Asp Tyr Trp Gly															
[2010]		100	105	110												
[2011]	Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser															
[2012]		115	120													
[2013]	<210>	90														
[2014]	<211>	112														
[2015]	<212>	PRT														
[2016]	<213>	人工序列														
[2017]	<220>															
[2018]	<223>	CD19 VL														
[2019]	<220>															
[2020]	<221>	混杂特征														
[2021]	<222>	(107) .. (107)														
[2022]	<223>	Xaa可以是任何天然发生氨基酸														
[2023]	<400>	90														
[2024]	Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly															
[2025]	1	5	10	15												
[2026]	Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Glu Thr Ser															
[2027]		20	25	30												

[2028]	Thr Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
[2029]	35 40 45
[2030]	Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Lys Arg Phe Ser Gly Val Pro
[2031]	50 55 60
[2032]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
[2033]	65 70 75 80
[2034]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Leu
[2035]	85 90 95
[2036]	Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Xaa Lys Leu Glu Ile Lys
[2037]	100 105 110
[2038]	<210> 91
[2039]	<211> 5
[2040]	<212> PRT
[2041]	<213> 人工序列
[2042]	<220>
[2043]	<223> CD19 HCDR1
[2044]	<400> 91
[2045]	Asp Tyr Ile Met His
[2046]	1 5
[2047]	<210> 92
[2048]	<211> 17
[2049]	<212> PRT
[2050]	<213> 人工序列
[2051]	<220>
[2052]	<223> CD19 HCDR2
[2053]	<400> 92
[2054]	Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Lys Tyr Thr Glu Lys Phe Gln
[2055]	1 5 10 15
[2056]	Gly
[2057]	<210> 93
[2058]	<211> 12
[2059]	<212> PRT
[2060]	<213> 人工序列
[2061]	<220>
[2062]	<223> CD19 HCDR3
[2063]	<400> 93
[2064]	Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ala Leu Phe Asp Tyr
[2065]	1 5 10
[2066]	<210> 94

[2067]	<211> 16
[2068]	<212> PRT
[2069]	<213> 人工序列
[2070]	<220>
[2071]	<223> CD19 LCDR1
[2072]	<400> 94
[2073]	Lys Ser Ser Gln Ser Leu Glu Thr Ser Thr Gly Asn Thr Tyr Leu Asn
[2074]	1 5 10 15
[2075]	<210> 95
[2076]	<211> 7
[2077]	<212> PRT
[2078]	<213> 人工序列
[2079]	<220>
[2080]	<223> CD19 LCDR2
[2081]	<400> 95
[2082]	Arg Val Ser Lys Arg Phe Ser
[2083]	1 5
[2084]	<210> 96
[2085]	<211> 9
[2086]	<212> PRT
[2087]	<213> 人工序列
[2088]	<220>
[2089]	<223> CD19 LCDR3
[2090]	<400> 96
[2091]	Leu Gln Pro Gly His Tyr Pro Gly Thr
[2092]	1 5
[2093]	<210> 97
[2094]	<211> 121
[2095]	<212> PRT
[2096]	<213> 人工序列
[2097]	<220>
[2098]	<223> CD19 VH
[2099]	<400> 97
[2100]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
[2101]	1 5 10 15
[2102]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
[2103]	20 25 30
[2104]	Ile Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
[2105]	35 40 45

[2106]	Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Lys Tyr Thr Glu Lys Phe
[2107]	50 55 60
[2108]	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
[2109]	65 70 75 80
[2110]	Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[2111]	85 90 95
[2112]	Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ala Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
[2113]	100 105 110
[2114]	Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
[2115]	115 120
[2116]	<210> 98
[2117]	<211> 112
[2118]	<212> PRT
[2119]	<213> 人工序列
[2120]	<220>
[2121]	<223> CD19 VL
[2122]	<400> 98
[2123]	Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
[2124]	1 5 10 15
[2125]	Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Glu Thr Ser
[2126]	20 25 30
[2127]	Thr Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
[2128]	35 40 45
[2129]	Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Lys Arg Phe Ser Gly Val Pro
[2130]	50 55 60
[2131]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
[2132]	65 70 75 80
[2133]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Pro
[2134]	85 90 95
[2135]	Gly His Tyr Pro Gly Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
[2136]	100 105 110
[2137]	<210> 99
[2138]	<211> 5
[2139]	<212> PRT
[2140]	<213> 人工序列
[2141]	<220>
[2142]	<223> CD19 HCDR1
[2143]	<400> 99
[2144]	Asp Tyr Ile Met His

[illegible]

[2184]	<211> 9
[2185]	<212> PRT
[2186]	<213> 人工序列
[2187]	<220>
[2188]	<223> CD19 LCDR3
[2189]	<400> 104
[2190]	Leu Gln Leu Asp Ser Tyr Pro Asn Thr
[2191]	1 5
[2192]	<210> 105
[2193]	<211> 121
[2194]	<212> PRT
[2195]	<213> 人工序列
[2196]	<220>
[2197]	<223> CD19 VH
[2198]	<400> 105
[2199]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
[2200]	1 5 10 15
[2201]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
[2202]	20 25 30
[2203]	Ile Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
[2204]	35 40 45
[2205]	Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Lys Tyr Thr Glu Lys Phe
[2206]	50 55 60
[2207]	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
[2208]	65 70 75 80
[2209]	Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[2210]	85 90 95
[2211]	Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Pro Gln Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
[2212]	100 105 110
[2213]	Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
[2214]	115 120
[2215]	<210> 106
[2216]	<211> 112
[2217]	<212> PRT
[2218]	<213> 人工序列
[2219]	<220>
[2220]	<223> CD19 VL
[2221]	<400> 106
[2222]	Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly

[2223]	1	5	10	15
[2224]	Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Glu Thr Ser			
[2225]	20	25	30	
[2226]	Thr Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser			
[2227]	35	40	45	
[2228]	Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Lys Arg Phe Ser Gly Val Pro			
[2229]	50	55	60	
[2230]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile			
[2231]	65	70	75	80
[2232]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Leu			
[2233]	85	90	95	
[2234]	Asp Ser Tyr Pro Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys			
[2235]	100	105	110	
[2236]	<210> 107			
[2237]	<211> 5			
[2238]	<212> PRT			
[2239]	<213> 人工序列			
[2240]	<220>			
[2241]	<223> CD19 HCDR1			
[2242]	<400> 107			
[2243]	Asp Tyr Ile Met His			
[2244]	1	5		
[2245]	<210> 108			
[2246]	<211> 17			
[2247]	<212> PRT			
[2248]	<213> 人工序列			
[2249]	<220>			
[2250]	<223> CD19 HCDR2			
[2251]	<400> 108			
[2252]	Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Lys Tyr Thr Glu Lys Phe Gln			
[2253]	1	5	10	15
[2254]	Gly			
[2255]	<210> 109			
[2256]	<211> 12			
[2257]	<212> PRT			
[2258]	<213> 人工序列			
[2259]	<220>			
[2260]	<223> CD19 HCDR3			
[2261]	<400> 109			

[2262]	Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Glu Leu Phe Asp Tyr
[2263]	1 5 10
[2264]	<210> 110
[2265]	<211> 16
[2266]	<212> PRT
[2267]	<213> 人工序列
[2268]	<220>
[2269]	<223> CD19 LCDR1
[2270]	<400> 110
[2271]	Lys Ser Ser Gln Ser Leu Glu Thr Ser Thr Gly Asn Thr Tyr Leu Asn
[2272]	1 5 10 15
[2273]	<210> 111
[2274]	<211> 7
[2275]	<212> PRT
[2276]	<213> 人工序列
[2277]	<220>
[2278]	<223> CD19 LCDR2
[2279]	<400> 111
[2280]	Arg Val Ser Lys Arg Phe Ser
[2281]	1 5
[2282]	<210> 112
[2283]	<211> 9
[2284]	<212> PRT
[2285]	<213> 人工序列
[2286]	<220>
[2287]	<223> CD19 LCDR3
[2288]	<400> 112
[2289]	Leu Gln Leu Thr His Glu Pro Tyr Thr
[2290]	1 5
[2291]	<210> 113
[2292]	<211> 121
[2293]	<212> PRT
[2294]	<213> 人工序列
[2295]	<220>
[2296]	<223> CD19 VH
[2297]	<400> 113
[2298]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
[2299]	1 5 10 15
[2300]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

[2301]	20	25	30
[2302]	Ile Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met		
[2303]	35	40	45
[2304]	Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Lys Tyr Thr Glu Lys Phe		
[2305]	50	55	60
[2306]	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr		
[2307]	65	70	75
[2308]	Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
[2309]	85	90	95
[2310]	Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Glu Leu Phe Asp Tyr Trp Gly		
[2311]	100	105	110
[2312]	Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser		
[2313]	115	120	
[2314]	<210> 114		
[2315]	<211> 112		
[2316]	<212> PRT		
[2317]	<213> 人工序列		
[2318]	<220>		
[2319]	<223> CD19 VL		
[2320]	<400> 114		
[2321]	Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly		
[2322]	1	5	10
[2323]	Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Glu Thr Ser		
[2324]	20	25	30
[2325]	Thr Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser		
[2326]	35	40	45
[2327]	Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Lys Arg Phe Ser Gly Val Pro		
[2328]	50	55	60
[2329]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile		
[2330]	65	70	75
[2331]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Leu		
[2332]	85	90	95
[2333]	Thr His Glu Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys		
[2334]	100	105	110
[2335]	<210> 115		
[2336]	<211> 207		
[2337]	<212> PRT		
[2338]	<213> 人(Homo sapiens)		
[2339]	<400> 115		

[2340]	Met	Gln	Ser	Gly	Thr	His	Trp	Arg	Val	Leu	Gly	Leu	Cys	Leu	Leu	Ser
[2341]	1				5					10					15	
[2342]	Val	Gly	Val	Trp	Gly	Gln	Asp	Gly	Asn	Glu	Glu	Met	Gly	Gly	Ile	Thr
[2343]				20					25						30	
[2344]	Gln	Thr	Pro	Tyr	Lys	Val	Ser	Ile	Ser	Gly	Thr	Thr	Val	Ile	Leu	Thr
[2345]			35					40						45		
[2346]	Cys	Pro	Gln	Tyr	Pro	Gly	Ser	Glu	Ile	Leu	Trp	Gln	His	Asn	Asp	Lys
[2347]		50					55					60				
[2348]	Asn	Ile	Gly	Gly	Asp	Glu	Asp	Asp	Lys	Asn	Ile	Gly	Ser	Asp	Glu	Asp
[2349]	65				70					75					80	
[2350]	His	Leu	Ser	Leu	Lys	Glu	Phe	Ser	Glu	Leu	Glu	Gln	Ser	Gly	Tyr	Tyr
[2351]				85					90						95	
[2352]	Val	Cys	Tyr	Pro	Arg	Gly	Ser	Lys	Pro	Glu	Asp	Ala	Asn	Phe	Tyr	Leu
[2353]				100					105					110		
[2354]	Tyr	Leu	Arg	Ala	Arg	Val	Cys	Glu	Asn	Cys	Met	Glu	Met	Asp	Val	Met
[2355]			115					120					125			
[2356]	Ser	Val	Ala	Thr	Ile	Val	Ile	Val	Asp	Ile	Cys	Ile	Thr	Gly	Gly	Leu
[2357]		130					135						140			
[2358]	Leu	Leu	Leu	Val	Tyr	Tyr	Trp	Ser	Lys	Asn	Arg	Lys	Ala	Lys	Ala	Lys
[2359]	145				150					155					160	
[2360]	Pro	Val	Thr	Arg	Gly	Ala	Gly	Ala	Gly	Gly	Arg	Gln	Arg	Gly	Gln	Asn
[2361]				165					170						175	
[2362]	Lys	Glu	Arg	Pro	Pro	Pro	Val	Pro	Asn	Pro	Asp	Tyr	Glu	Pro	Ile	Arg
[2363]			180						185					190		
[2364]	Lys	Gly	Gln	Arg	Asp	Leu	Tyr	Ser	Gly	Leu	Asn	Gln	Arg	Arg	Ile	
[2365]		195					200					205				
[2366]	<210>	116														
[2367]	<211>	198														
[2368]	<212>	PRT														
[2369]	<213>	Macaca fascicularis														
[2370]	<400>	116														
[2371]	Met	Gln	Ser	Gly	Thr	Arg	Trp	Arg	Val	Leu	Gly	Leu	Cys	Leu	Leu	Ser
[2372]	1				5					10					15	
[2373]	Ile	Gly	Val	Trp	Gly	Gln	Asp	Gly	Asn	Glu	Glu	Met	Gly	Ser	Ile	Thr
[2374]			20						25					30		
[2375]	Gln	Thr	Pro	Tyr	Gln	Val	Ser	Ile	Ser	Gly	Thr	Thr	Val	Ile	Leu	Thr
[2376]			35					40					45			
[2377]	Cys	Ser	Gln	His	Leu	Gly	Ser	Glu	Ala	Gln	Trp	Gln	His	Asn	Gly	Lys
[2378]		50					55					60				

[2379]	Asn Lys Glu Asp Ser Gly Asp Arg Leu Phe Leu Pro Glu Phe Ser Glu
[2380]	65 70 75 80
[2381]	Met Glu Gln Ser Gly Tyr Tyr Val Cys Tyr Pro Arg Gly Ser Asn Pro
[2382]	85 90 95
[2383]	Glu Asp Ala Ser His His Leu Tyr Leu Lys Ala Arg Val Cys Glu Asn
[2384]	100 105 110
[2385]	Cys Met Glu Met Asp Val Met Ala Val Ala Thr Ile Val Ile Val Asp
[2386]	115 120 125
[2387]	Ile Cys Ile Thr Leu Gly Leu Leu Leu Leu Val Tyr Tyr Trp Ser Lys
[2388]	130 135 140
[2389]	Asn Arg Lys Ala Lys Ala Lys Pro Val Thr Arg Gly Ala Gly Ala Gly
[2390]	145 150 155 160
[2391]	Gly Arg Gln Arg Gly Gln Asn Lys Glu Arg Pro Pro Pro Val Pro Asn
[2392]	165 170 175
[2393]	Pro Asp Tyr Glu Pro Ile Arg Lys Gly Gln Gln Asp Leu Tyr Ser Gly
[2394]	180 185 190
[2395]	Leu Asn Gln Arg Arg Ile
[2396]	195
[2397]	<210> 117
[2398]	<211> 556
[2399]	<212> PRT
[2400]	<213> 人(Homo sapiens)
[2401]	<400> 117
[2402]	Met Pro Pro Pro Arg Leu Leu Phe Phe Leu Leu Phe Leu Thr Pro Met
[2403]	1 5 10 15
[2404]	Glu Val Arg Pro Glu Glu Pro Leu Val Val Lys Val Glu Glu Gly Asp
[2405]	20 25 30
[2406]	Asn Ala Val Leu Gln Cys Leu Lys Gly Thr Ser Asp Gly Pro Thr Gln
[2407]	35 40 45
[2408]	Gln Leu Thr Trp Ser Arg Glu Ser Pro Leu Lys Pro Phe Leu Lys Leu
[2409]	50 55 60
[2410]	Ser Leu Gly Leu Pro Gly Leu Gly Ile His Met Arg Pro Leu Ala Ile
[2411]	65 70 75 80
[2412]	Trp Leu Phe Ile Phe Asn Val Ser Gln Gln Met Gly Gly Phe Tyr Leu
[2413]	85 90 95
[2414]	Cys Gln Pro Gly Pro Pro Ser Glu Lys Ala Trp Gln Pro Gly Trp Thr
[2415]	100 105 110
[2416]	Val Asn Val Glu Gly Ser Gly Glu Leu Phe Arg Trp Asn Val Ser Asp
[2417]	115 120 125

[2418]	Leu	Gly	Gly	Leu	Gly	Cys	Gly	Leu	Lys	Asn	Arg	Ser	Ser	Glu	Gly	Pro
[2419]	130						135					140				
[2420]	Ser	Ser	Pro	Ser	Gly	Lys	Leu	Met	Ser	Pro	Lys	Leu	Tyr	Val	Trp	Ala
[2421]	145					150					155					160
[2422]	Lys	Asp	Arg	Pro	Glu	Ile	Trp	Glu	Gly	Glu	Pro	Pro	Cys	Leu	Pro	Pro
[2423]					165					170					175	
[2424]	Arg	Asp	Ser	Leu	Asn	Gln	Ser	Leu	Ser	Gln	Asp	Leu	Thr	Met	Ala	Pro
[2425]				180						185				190		
[2426]	Gly	Ser	Thr	Leu	Trp	Leu	Ser	Cys	Gly	Val	Pro	Pro	Asp	Ser	Val	Ser
[2427]			195					200					205			
[2428]	Arg	Gly	Pro	Leu	Ser	Trp	Thr	His	Val	His	Pro	Lys	Gly	Pro	Lys	Ser
[2429]	210						215					220				
[2430]	Leu	Leu	Ser	Leu	Glu	Leu	Lys	Asp	Asp	Arg	Pro	Ala	Arg	Asp	Met	Trp
[2431]	225					230					235					240
[2432]	Val	Met	Glu	Thr	Gly	Leu	Leu	Leu	Pro	Arg	Ala	Thr	Ala	Gln	Asp	Ala
[2433]					245					250					255	
[2434]	Gly	Lys	Tyr	Tyr	Cys	His	Arg	Gly	Asn	Leu	Thr	Met	Ser	Phe	His	Leu
[2435]				260					265					270		
[2436]	Glu	Ile	Thr	Ala	Arg	Pro	Val	Leu	Trp	His	Trp	Leu	Leu	Arg	Thr	Gly
[2437]			275					280					285			
[2438]	Gly	Trp	Lys	Val	Ser	Ala	Val	Thr	Leu	Ala	Tyr	Leu	Ile	Phe	Cys	Leu
[2439]	290						295					300				
[2440]	Cys	Ser	Leu	Val	Gly	Ile	Leu	His	Leu	Gln	Arg	Ala	Leu	Val	Leu	Arg
[2441]	305					310					315					320
[2442]	Arg	Lys	Arg	Lys	Arg	Met	Thr	Asp	Pro	Thr	Arg	Arg	Phe	Phe	Lys	Val
[2443]				325						330					335	
[2444]	Thr	Pro	Pro	Pro	Gly	Ser	Gly	Pro	Gln	Asn	Gln	Tyr	Gly	Asn	Val	Leu
[2445]				340					345					350		
[2446]	Ser	Leu	Pro	Thr	Pro	Thr	Ser	Gly	Leu	Gly	Arg	Ala	Gln	Arg	Trp	Ala
[2447]			355					360					365			
[2448]	Ala	Gly	Leu	Gly	Gly	Thr	Ala	Pro	Ser	Tyr	Gly	Asn	Pro	Ser	Ser	Asp
[2449]	370						375					380				
[2450]	Val	Gln	Ala	Asp	Gly	Ala	Leu	Gly	Ser	Arg	Ser	Pro	Pro	Gly	Val	Gly
[2451]	385					390					395					400
[2452]	Pro	Glu	Glu	Glu	Glu	Gly	Glu	Gly	Tyr	Glu	Glu	Pro	Asp	Ser	Glu	Glu
[2453]				405						410					415	
[2454]	Asp	Ser	Glu	Phe	Tyr	Glu	Asn	Asp	Ser	Asn	Leu	Gly	Gln	Asp	Gln	Leu
[2455]				420					425				430			
[2456]	Ser	Gln	Asp	Gly	Ser	Gly	Tyr	Glu	Asn	Pro	Glu	Asp	Glu	Pro	Leu	Gly

[2457]	435	440	445
[2458]	Pro Glu Asp Glu Asp Ser Phe Ser Asn Ala Glu Ser Tyr Glu Asn Glu		
[2459]	450	455	460
[2460]	Asp Glu Glu Leu Thr Gln Pro Val Ala Arg Thr Met Asp Phe Leu Ser		
[2461]	465	470	475
[2462]	Pro His Gly Ser Ala Trp Asp Pro Ser Arg Glu Ala Thr Ser Leu Gly		
[2463]	485	490	495
[2464]	Ser Gln Ser Tyr Glu Asp Met Arg Gly Ile Leu Tyr Ala Ala Pro Gln		
[2465]	500	505	510
[2466]	Leu Arg Ser Ile Arg Gly Gln Pro Gly Pro Asn His Glu Glu Asp Ala		
[2467]	515	520	525
[2468]	Asp Ser Tyr Glu Asn Met Asp Asn Pro Asp Gly Pro Asp Pro Ala Trp		
[2469]	530	535	540
[2470]	Gly Gly Gly Gly Arg Met Gly Thr Trp Ser Thr Arg		
[2471]	545	550	555
[2472]	<210> 118		
[2473]	<211> 10		
[2474]	<212> PRT		
[2475]	<213> 人工序列		
[2476]	<220>		
[2477]	<223> 接头		
[2478]	<400> 118		
[2479]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser		
[2480]	1	5	10
[2481]	<210> 119		
[2482]	<211> 11		
[2483]	<212> PRT		
[2484]	<213> 人工序列		
[2485]	<220>		
[2486]	<223> 接头		
[2487]	<400> 119		
[2488]	Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser		
[2489]	1	5	10
[2490]	<210> 120		
[2491]	<211> 5		
[2492]	<212> PRT		
[2493]	<213> 人工序列		
[2494]	<220>		
[2495]	<223> CD3 HVR-H1		

[2496]	<400> 120
[2497]	Asn Tyr Tyr Ile His
[2498]	1 5
[2499]	<210> 121
[2500]	<211> 17
[2501]	<212> PRT
[2502]	<213> 人工序列
[2503]	<220>
[2504]	<223> CD3 HVR-H2
[2505]	<400> 121
[2506]	Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
[2507]	1 5 10 15
[2508]	Gly
[2509]	<210> 122
[2510]	<211> 10
[2511]	<212> PRT
[2512]	<213> 人工序列
[2513]	<220>
[2514]	<223> CD3 HVR-H3
[2515]	<400> 122
[2516]	Asp Ser Tyr Ser Asn Tyr Tyr Phe Asp Tyr
[2517]	1 5 10
[2518]	<210> 123
[2519]	<211> 17
[2520]	<212> PRT
[2521]	<213> 人工序列
[2522]	<220>
[2523]	<223> CD3 HVR-L1
[2524]	<400> 123
[2525]	Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu
[2526]	1 5 10 15
[2527]	Ala
[2528]	<210> 124
[2529]	<211> 7
[2530]	<212> PRT
[2531]	<213> 人工序列
[2532]	<220>
[2533]	<223> CD3 HVR-L2
[2534]	<400> 124

[2535]	Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
[2536]	1 5
[2537]	<210> 125
[2538]	<211> 8
[2539]	<212> PRT
[2540]	<213> 人工序列
[2541]	<220>
[2542]	<223> CD3 HVR-L3
[2543]	<400> 125
[2544]	Thr Gln Ser Phe Ile Leu Arg Thr
[2545]	1 5
[2546]	<210> 126
[2547]	<211> 119
[2548]	<212> PRT
[2549]	<213> 人工序列
[2550]	<220>
[2551]	<223> CD3 VH
[2552]	<400> 126
[2553]	Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
[2554]	1 5 10 15
[2555]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
[2556]	20 25 30
[2557]	Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
[2558]	35 40 45
[2559]	Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
[2560]	50 55 60
[2561]	Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
[2562]	65 70 75 80
[2563]	Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[2564]	85 90 95
[2565]	Ala Arg Asp Ser Tyr Ser Asn Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
[2566]	100 105 110
[2567]	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[2568]	115
[2569]	<210> 127
[2570]	<211> 112
[2571]	<212> PRT
[2572]	<213> 人工序列
[2573]	<220>

[2574]	<223>	CD3 VL
[2575]	<400>	127
[2576]	Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly	
[2577]	1	5 10 15
[2578]	Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser	
[2579]	20	25 30
[2580]	Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln	
[2581]	35	40 45
[2582]	Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val	
[2583]	50	55 60
[2584]	Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr	
[2585]	65	70 75 80
[2586]	Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Gln	
[2587]	85	90 95
[2588]	Ser Phe Ile Leu Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys	
[2589]	100	105 110
[2590]	<210>	128
[2591]	<211>	10
[2592]	<212>	PRT
[2593]	<213>	人工序列
[2594]	<220>	
[2595]	<223>	CD20 HVR-H1
[2596]	<400>	128
[2597]	Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Asn Met His	
[2598]	1	5 10
[2599]	<210>	129
[2600]	<211>	17
[2601]	<212>	PRT
[2602]	<213>	人工序列
[2603]	<220>	
[2604]	<223>	CD20 HVR-H2
[2605]	<400>	129
[2606]	Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Lys	
[2607]	1	5 10 15
[2608]	Gly	
[2609]	<210>	130
[2610]	<211>	13
[2611]	<212>	PRT
[2612]	<213>	人工序列

[2613] <220>
[2614] <223> CD20 HVR-H3
[2615] <400> 130
[2616] Val Val Tyr Tyr Ser Asn Ser Tyr Trp Tyr Phe Asp Val
[2617] 1 5 10
[2618] <210> 131
[2619] <211> 10
[2620] <212> PRT
[2621] <213> 人工序列
[2622] <220>
[2623] <223> CD20 HVR-L1
[2624] <400> 131
[2625] Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His
[2626] 1 5 10
[2627] <210> 132
[2628] <211> 7
[2629] <212> PRT
[2630] <213> 人工序列
[2631] <220>
[2632] <223> CD20 HVR-L2
[2633] <400> 132
[2634] Ala Pro Ser Asn Leu Ala Ser
[2635] 1 5
[2636] <210> 133
[2637] <211> 9
[2638] <212> PRT
[2639] <213> 人工序列
[2640] <220>
[2641] <223> CD20 HVR-L3
[2642] <400> 133
[2643] Gln Gln Trp Ser Phe Asn Pro Pro Thr
[2644] 1 5
[2645] <210> 134
[2646] <211> 122
[2647] <212> PRT
[2648] <213> 人工序列
[2649] <220>
[2650] <223> CD20 VH
[2651] <400> 134

[2652]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[2653]	1 5 10 15
[2654]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
[2655]	20 25 30
[2656]	Asn Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[2657]	35 40 45
[2658]	Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
[2659]	50 55 60
[2660]	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
[2661]	65 70 75 80
[2662]	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[2663]	85 90 95
[2664]	Ala Arg Val Val Tyr Tyr Ser Asn Ser Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp
[2665]	100 105 110
[2666]	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[2667]	115 120
[2668]	<210> 135
[2669]	<211> 107
[2670]	<212> PRT
[2671]	<213> 人工序列
[2672]	<220>
[2673]	<223> CD20 VL
[2674]	<400> 135
[2675]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[2676]	1 5 10 15
[2677]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
[2678]	20 25 30
[2679]	His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Pro Leu Ile Tyr
[2680]	35 40 45
[2681]	Ala Pro Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
[2682]	50 55 60
[2683]	Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
[2684]	65 70 75 80
[2685]	Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Phe Asn Pro Pro Thr
[2686]	85 90 95
[2687]	Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
[2688]	100 105
[2689]	<210> 136
[2690]	<211> 5

[2691] <212> PRT
[2692] <213> 小鼠 (Mus musculus)
[2693] <400> 136
[2694] Asp Thr Tyr Met His
[2695] 1 5
[2696] <210> 137
[2697] <211> 17
[2698] <212> PRT
[2699] <213> 小鼠 (Mus musculus)
[2700] <400> 137
[2701] Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Ser Lys Tyr Val Pro Lys Phe Gln
[2702] 1 5 10 15
[2703] Gly
[2704] <210> 138
[2705] <211> 12
[2706] <212> PRT
[2707] <213> 小鼠 (Mus musculus)
[2708] <400> 138
[2709] Phe Gly Tyr Tyr Val Ser Asp Tyr Ala Met Ala Tyr
[2710] 1 5 10
[2711] <210> 139
[2712] <211> 15
[2713] <212> PRT
[2714] <213> 小鼠 (Mus musculus)
[2715] <400> 139
[2716] Arg Ala Gly Glu Ser Val Asp Ile Phe Gly Val Gly Phe Leu His
[2717] 1 5 10 15
[2718] <210> 140
[2719] <211> 7
[2720] <212> PRT
[2721] <213> 小鼠 (Mus musculus)
[2722] <400> 140
[2723] Arg Ala Ser Asn Arg Ala Thr
[2724] 1 5
[2725] <210> 141
[2726] <211> 9
[2727] <212> PRT
[2728] <213> 小鼠 (Mus musculus)
[2729] <400> 141

[2730]	Gln Gln Thr Asn Glu Asp Pro Tyr Thr
[2731]	1 5
[2732]	<210> 142
[2733]	<211> 121
[2734]	<212> PRT
[2735]	<213> 人工序列
[2736]	<220>
[2737]	<223> CEA VH
[2738]	<400> 142
[2739]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
[2740]	1 5 10 15
[2741]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
[2742]	20 25 30
[2743]	Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
[2744]	35 40 45
[2745]	Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Ser Lys Tyr Val Pro Lys Phe
[2746]	50 55 60
[2747]	Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
[2748]	65 70 75 80
[2749]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[2750]	85 90 95
[2751]	Ala Pro Phe Gly Tyr Tyr Val Ser Asp Tyr Ala Met Ala Tyr Trp Gly
[2752]	100 105 110
[2753]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
[2754]	115 120
[2755]	<210> 143
[2756]	<211> 111
[2757]	<212> PRT
[2758]	<213> 人工序列
[2759]	<220>
[2760]	<223> CEA VL
[2761]	<400> 143
[2762]	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
[2763]	1 5 10 15
[2764]	Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Gly Glu Ser Val Asp Ile Phe
[2765]	20 25 30
[2766]	Gly Val Gly Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
[2767]	35 40 45
[2768]	Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala

[2769]	50	55	60
[2770]	Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser		
[2771]	65	70	75
[2772]	Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Asn		
[2773]	85	90	95
[2774]	Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys		
[2775]	100	105	110
[2776]	<210> 144		
[2777]	<211> 232		
[2778]	<212> PRT		
[2779]	<213> 人工序列		
[2780]	<220>		
[2781]	<223> CD3 VH-CL		
[2782]	<400> 144		
[2783]	Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
[2784]	1	5	10
[2785]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr		
[2786]	20	25	30
[2787]	Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
[2788]	35	40	45
[2789]	Ser Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp		
[2790]	50	55	60
[2791]	Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr		
[2792]	65	70	75
[2793]	Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr		
[2794]	85	90	95
[2795]	Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe		
[2796]	100	105	110
[2797]	Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Val		
[2798]	115	120	125
[2799]	Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys		
[2800]	130	135	140
[2801]	Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg		
[2802]	145	150	155
[2803]	Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn		
[2804]	165	170	175
[2805]	Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser		
[2806]	180	185	190
[2807]	Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys		

[2808]	195	200	205
[2809]	Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr		
[2810]	210	215	220
[2811]	Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
[2812]	225	230	
[2813]	<210> 145		
[2814]	<211> 449		
[2815]	<212> PRT		
[2816]	<213> 人工序列		
[2817]	<220>		
[2818]	<223> CEA VH-CH1 (EE) -Fc (穴, P329G LALA)		
[2819]	<400> 145		
[2820]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser		
[2821]	1	5	10
[2822]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr		
[2823]	20	25	30
[2824]	Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met		
[2825]	35	40	45
[2826]	Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Ser Lys Tyr Val Pro Lys Phe		
[2827]	50	55	60
[2828]	Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr		
[2829]	65	70	75
[2830]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
[2831]	85	90	95
[2832]	Ala Pro Phe Gly Tyr Tyr Val Ser Asp Tyr Ala Met Ala Tyr Trp Gly		
[2833]	100	105	110
[2834]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser		
[2835]	115	120	125
[2836]	Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala		
[2837]	130	135	140
[2838]	Ala Leu Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val		
[2839]	145	150	155
[2840]	Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala		
[2841]	165	170	175
[2842]	Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val		
[2843]	180	185	190
[2844]	Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His		
[2845]	195	200	205
[2846]	Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Glu Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys		

[2847]	210	215	220
[2848]	Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly		
[2849]	225	230	235
[2850]	Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met		
[2851]	245	250	255
[2852]	Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His		
[2853]	260	265	270
[2854]	Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val		
[2855]	275	280	285
[2856]	His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr		
[2857]	290	295	300
[2858]	Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly		
[2859]	305	310	315
[2860]	Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile		
[2861]	325	330	335
[2862]	Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val		
[2863]	340	345	350
[2864]	Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser		
[2865]	355	360	365
[2866]	Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu		
[2867]	370	375	380
[2868]	Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro		
[2869]	385	390	395
[2870]	Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val		
[2871]	405	410	415
[2872]	Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met		
[2873]	420	425	430
[2874]	His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser		
[2875]	435	440	445
[2876]	Pro		
[2877]	<210> 146		
[2878]	<211> 674		
[2879]	<212> PRT		
[2880]	<213> 人工序列		
[2881]	<220>		
[2882]	<223> CEA VH-CH1 (EE) -CD3 VL-CH1-Fc (节, P329G LALA)		
[2883]	<400> 146		
[2884]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser		
[2885]	1	5	10
			15

[2886]	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Phe	Asn	Ile	Lys	Asp	Thr
[2887]				20					25					30		
[2888]	Tyr	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
[2889]			35					40					45			
[2890]	Gly	Arg	Ile	Asp	Pro	Ala	Asn	Gly	Asn	Ser	Lys	Tyr	Val	Pro	Lys	Phe
[2891]		50					55					60				
[2892]	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr
[2893]	65					70					75				80	
[2894]	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
[2895]				85					90					95		
[2896]	Ala	Pro	Phe	Gly	Tyr	Tyr	Val	Ser	Asp	Tyr	Ala	Met	Ala	Tyr	Trp	Gly
[2897]			100					105						110		
[2898]	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser
[2899]			115					120					125			
[2900]	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala
[2901]		130					135					140				
[2902]	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Glu	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val
[2903]	145					150				155					160	
[2904]	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala
[2905]				165					170					175		
[2906]	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val
[2907]			180					185					190			
[2908]	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His
[2909]		195				200						205				
[2910]	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Glu	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys
[2911]		210				215						220				
[2912]	Asp	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Ala	Val	Val	Thr
[2913]	225					230					235				240	
[2914]	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr	Val	Ser	Pro	Gly	Gly	Thr	Val	Thr	Leu	Thr
[2915]				245					250				255			
[2916]	Cys	Gly	Ser	Ser	Thr	Gly	Ala	Val	Thr	Thr	Ser	Asn	Tyr	Ala	Asn	Trp
[2917]			260						265				270			
[2918]	Val	Gln	Glu	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Phe	Arg	Gly	Leu	Ile	Gly	Gly	Thr
[2919]			275					280				285				
[2920]	Asn	Lys	Arg	Ala	Pro	Gly	Thr	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Leu	Leu
[2921]		290				295					300					
[2922]	Gly	Gly	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Leu	Ser	Gly	Ala	Gln	Pro	Glu	Asp	Glu
[2923]	305					310					315			320		
[2924]	Ala	Glu	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn	Leu	Trp	Val	Phe	Gly

[2925]					325					330						335
[2926]	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro
[2927]					340					345						350
[2928]	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr
[2929]					355					360						365
[2930]	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr
[2931]					370					375						380
[2932]	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro
[2933]					385					390						400
[2934]	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr
[2935]					405					410						415
[2936]	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn
[2937]					420					425						430
[2938]	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser
[2939]					435					440						445
[2940]	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala
[2941]					450					455						460
[2942]	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu
[2943]					465					470						480
[2944]	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser
[2945]					485					490						495
[2946]	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu
[2947]					500					505						510
[2948]	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr
[2949]					515					520						525
[2950]	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn
[2951]					530					535						540
[2952]	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro
[2953]					545					550						560
[2954]	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln
[2955]					565					570						575
[2956]	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Cys	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val
[2957]					580					585						590
[2958]	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val
[2959]					595					600						605
[2960]	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro
[2961]					610					615						620
[2962]	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr
[2963]					625					630						640
										635						

[2964]	Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
[2965]	645 650 655
[2966]	Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
[2967]	660 665 670
[2968]	Ser Pro
[2969]	<210> 147
[2970]	<211> 218
[2971]	<212> PRT
[2972]	<213> 人工序列
[2973]	<220>
[2974]	<223> CEA VL-CL (RK)
[2975]	<400> 147
[2976]	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
[2977]	1 5 10 15
[2978]	Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Gly Glu Ser Val Asp Ile Phe
[2979]	20 25 30
[2980]	Gly Val Gly Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
[2981]	35 40 45
[2982]	Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala
[2983]	50 55 60
[2984]	Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
[2985]	65 70 75 80
[2986]	Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Asn
[2987]	85 90 95
[2988]	Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
[2989]	100 105 110
[2990]	Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Arg Lys
[2991]	115 120 125
[2992]	Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
[2993]	130 135 140
[2994]	Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
[2995]	145 150 155 160
[2996]	Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
[2997]	165 170 175
[2998]	Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
[2999]	180 185 190
[3000]	His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
[3001]	195 200 205
[3002]	Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

[3003]	210	215
[3004]	<210> 148	
[3005]	<211> 449	
[3006]	<212> PRT	
[3007]	<213> 人工序列	
[3008]	<220>	
[3009]	<223> CD19 VH-CH1 (EE) -Fc (穴, P329G LALA)	
[3010]	<400> 148	
[3011]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala	
[3012]	1 5 10 15	
[3013]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr	
[3014]	20 25 30	
[3015]	Ile Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met	
[3016]	35 40 45	
[3017]	Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Lys Tyr Thr Glu Lys Phe	
[3018]	50 55 60	
[3019]	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr	
[3020]	65 70 75 80	
[3021]	Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
[3022]	85 90 95	
[3023]	Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Pro Gln Leu Phe Asp Tyr Trp Gly	
[3024]	100 105 110	
[3025]	Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser	
[3026]	115 120 125	
[3027]	Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala	
[3028]	130 135 140	
[3029]	Ala Leu Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val	
[3030]	145 150 155 160	
[3031]	Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala	
[3032]	165 170 175	
[3033]	Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val	
[3034]	180 185 190	
[3035]	Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His	
[3036]	195 200 205	
[3037]	Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Glu Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys	
[3038]	210 215 220	
[3039]	Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly	
[3040]	225 230 235 240	
[3041]	Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met	

[3042]		245		250		255
[3043]	Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His					
[3044]		260		265		270
[3045]	Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val					
[3046]		275		280		285
[3047]	His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr					
[3048]		290		295		300
[3049]	Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly					
[3050]	305		310		315	320
[3051]	Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile					
[3052]		325		330		335
[3053]	Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val					
[3054]		340		345		350
[3055]	Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser					
[3056]		355		360		365
[3057]	Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu					
[3058]		370		375		380
[3059]	Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro					
[3060]	385		390		395	400
[3061]	Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val					
[3062]		405		410		415
[3063]	Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met					
[3064]		420		425		430
[3065]	His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser					
[3066]		435		440		445
[3067]	Pro					
[3068]	<210> 149					
[3069]	<211> 674					
[3070]	<212> PRT					
[3071]	<213> 人工序列					
[3072]	<220>					
[3073]	<223> CD19 VH-CH1 (EE) -CD3 VL-CH1-Fc (节, P329G LALA)					
[3074]	<400> 149					
[3075]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala					
[3076]	1	5		10		15
[3077]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr					
[3078]		20		25		30
[3079]	Ile Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met					
[3080]		35		40		45

[3081]	Gly	Tyr	Ile	Asn	Pro	Tyr	Asn	Asp	Gly	Ser	Lys	Tyr	Thr	Glu	Lys	Phe
[3082]	50						55				60					
[3083]	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Ser	Asp	Thr	Ser	Ile	Ser	Thr	Ala	Tyr
[3084]	65					70					75					80
[3085]	Met	Glu	Leu	Ser	Arg	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
[3086]					85					90					95	
[3087]	Ala	Arg	Gly	Thr	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Pro	Gln	Leu	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly
[3088]				100					105					110		
[3089]	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser
[3090]			115					120					125			
[3091]	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala
[3092]		130					135					140				
[3093]	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Glu	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val
[3094]	145					150					155					160
[3095]	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala
[3096]					165					170					175	
[3097]	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val
[3098]				180					185					190		
[3099]	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His
[3100]			195					200					205			
[3101]	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Glu	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys
[3102]		210					215					220				
[3103]	Asp	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Ala	Val	Val	Thr
[3104]	225					230					235					240
[3105]	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr	Val	Ser	Pro	Gly	Gly	Thr	Val	Thr	Leu	Thr
[3106]					245					250					255	
[3107]	Cys	Gly	Ser	Ser	Thr	Gly	Ala	Val	Thr	Thr	Ser	Asn	Tyr	Ala	Asn	Trp
[3108]					260					265				270		
[3109]	Val	Gln	Glu	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Phe	Arg	Gly	Leu	Ile	Gly	Gly	Thr
[3110]			275					280					285			
[3111]	Asn	Lys	Arg	Ala	Pro	Gly	Thr	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Leu	Leu
[3112]		290					295					300				
[3113]	Gly	Gly	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Leu	Ser	Gly	Ala	Gln	Pro	Glu	Asp	Glu
[3114]	305					310					315					320
[3115]	Ala	Glu	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn	Leu	Trp	Val	Phe	Gly
[3116]					325					330					335	
[3117]	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro
[3118]				340					345					350		
[3119]	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr

[3120]	355	360	365
[3121]	Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr		
[3122]	370	375	380
[3123]	Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro		
[3124]	385	390	395
[3125]	Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr		
[3126]	405	410	415
[3127]	Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn		
[3128]	420	425	430
[3129]	His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser		
[3130]	435	440	445
[3131]	Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala		
[3132]	450	455	460
[3133]	Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu		
[3134]	465	470	475
[3135]	Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser		
[3136]	485	490	495
[3137]	His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu		
[3138]	500	505	510
[3139]	Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr		
[3140]	515	520	525
[3141]	Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn		
[3142]	530	535	540
[3143]	Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro		
[3144]	545	550	555
[3145]	Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln		
[3146]	565	570	575
[3147]	Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val		
[3148]	580	585	590
[3149]	Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val		
[3150]	595	600	605
[3151]	Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro		
[3152]	610	615	620
[3153]	Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr		
[3154]	625	630	635
[3155]	Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val		
[3156]	645	650	655
[3157]	Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu		
[3158]	660	665	670

[3159]	Ser Pro
[3160]	<210> 150
[3161]	<211> 219
[3162]	<212> PRT
[3163]	<213> 人工序列
[3164]	<220>
[3165]	<223> CD19 VL-CL (RK)
[3166]	<400> 150
[3167]	Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
[3168]	1 5 10 15
[3169]	Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Glu Thr Ser
[3170]	20 25 30
[3171]	Thr Gly Thr Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
[3172]	35 40 45
[3173]	Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Lys Arg Phe Ser Gly Val Pro
[3174]	50 55 60
[3175]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
[3176]	65 70 75 80
[3177]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Leu
[3178]	85 90 95
[3179]	Leu Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
[3180]	100 105 110
[3181]	Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Arg
[3182]	115 120 125
[3183]	Lys Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
[3184]	130 135 140
[3185]	Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
[3186]	145 150 155 160
[3187]	Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
[3188]	165 170 175
[3189]	Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
[3190]	180 185 190
[3191]	Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
[3192]	195 200 205
[3193]	Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
[3194]	210 215

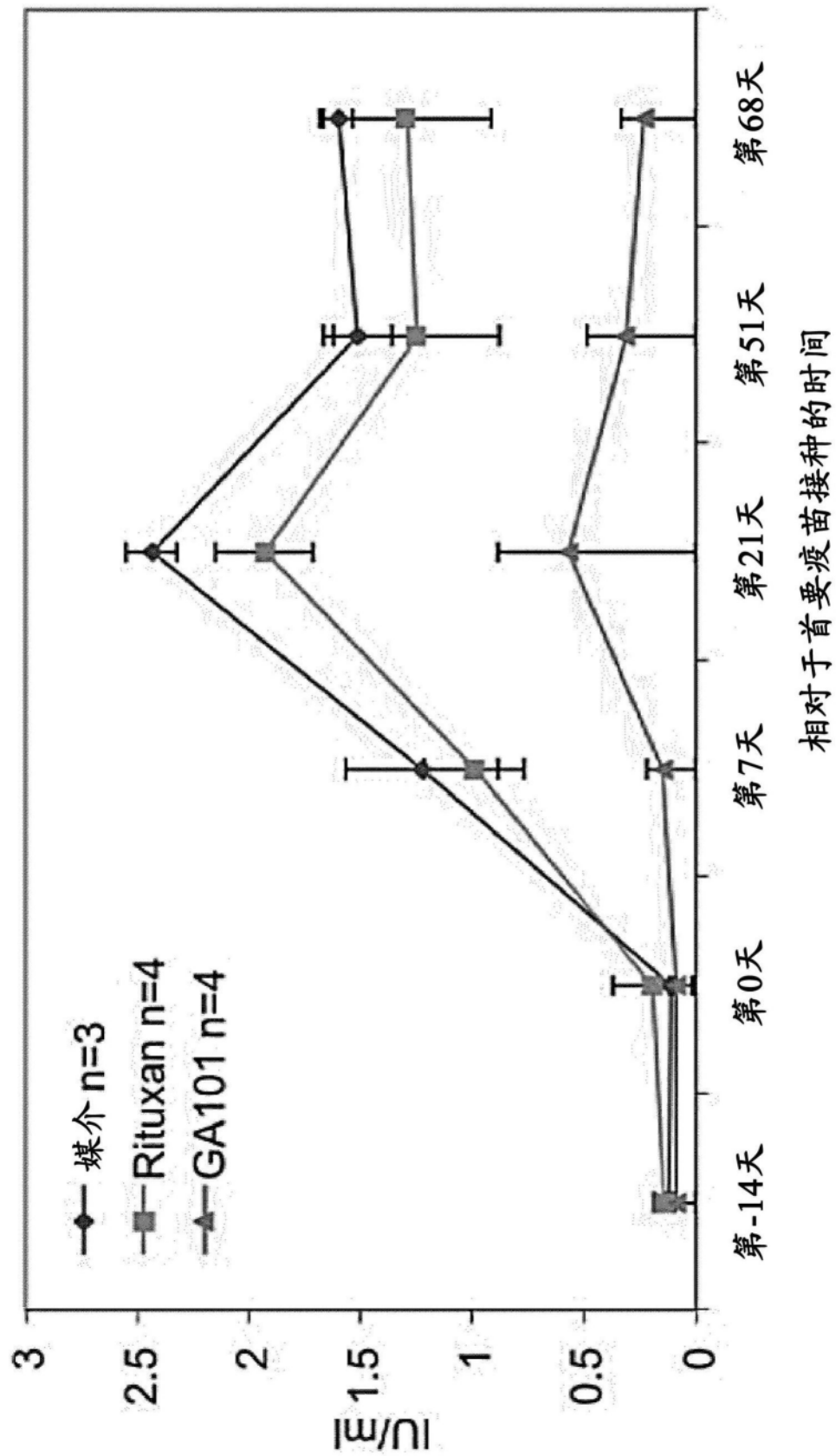


图1

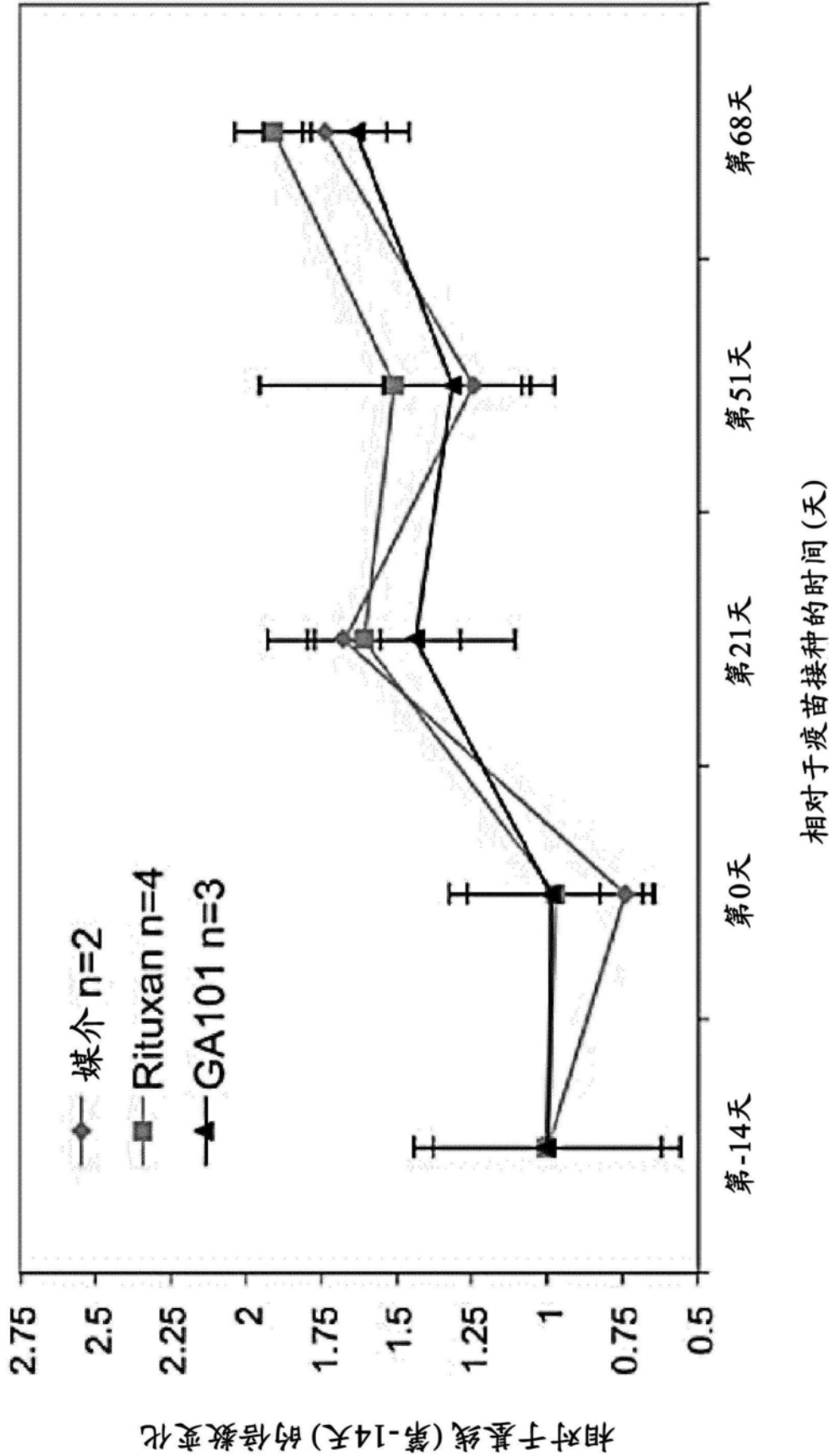


图2

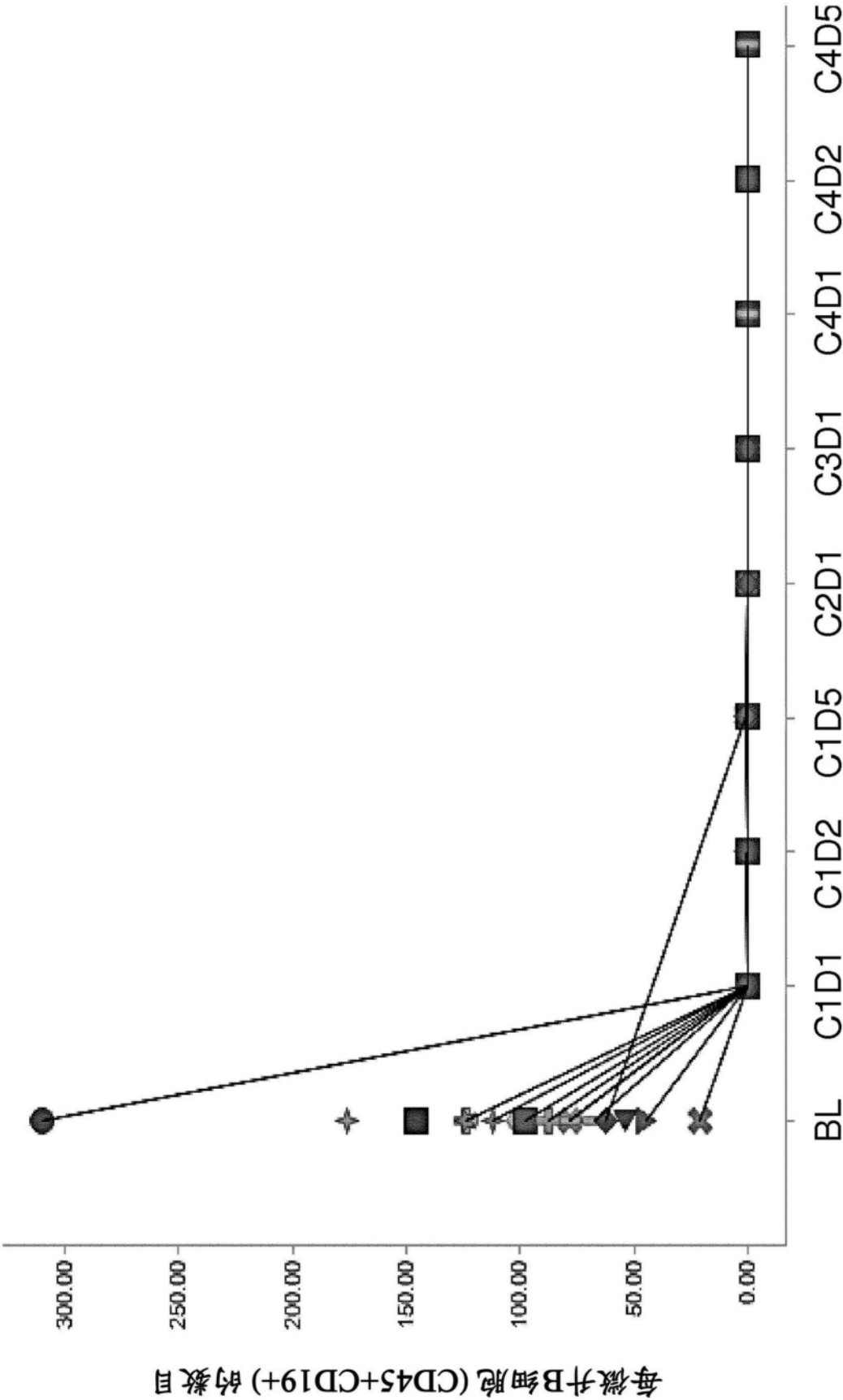


图3

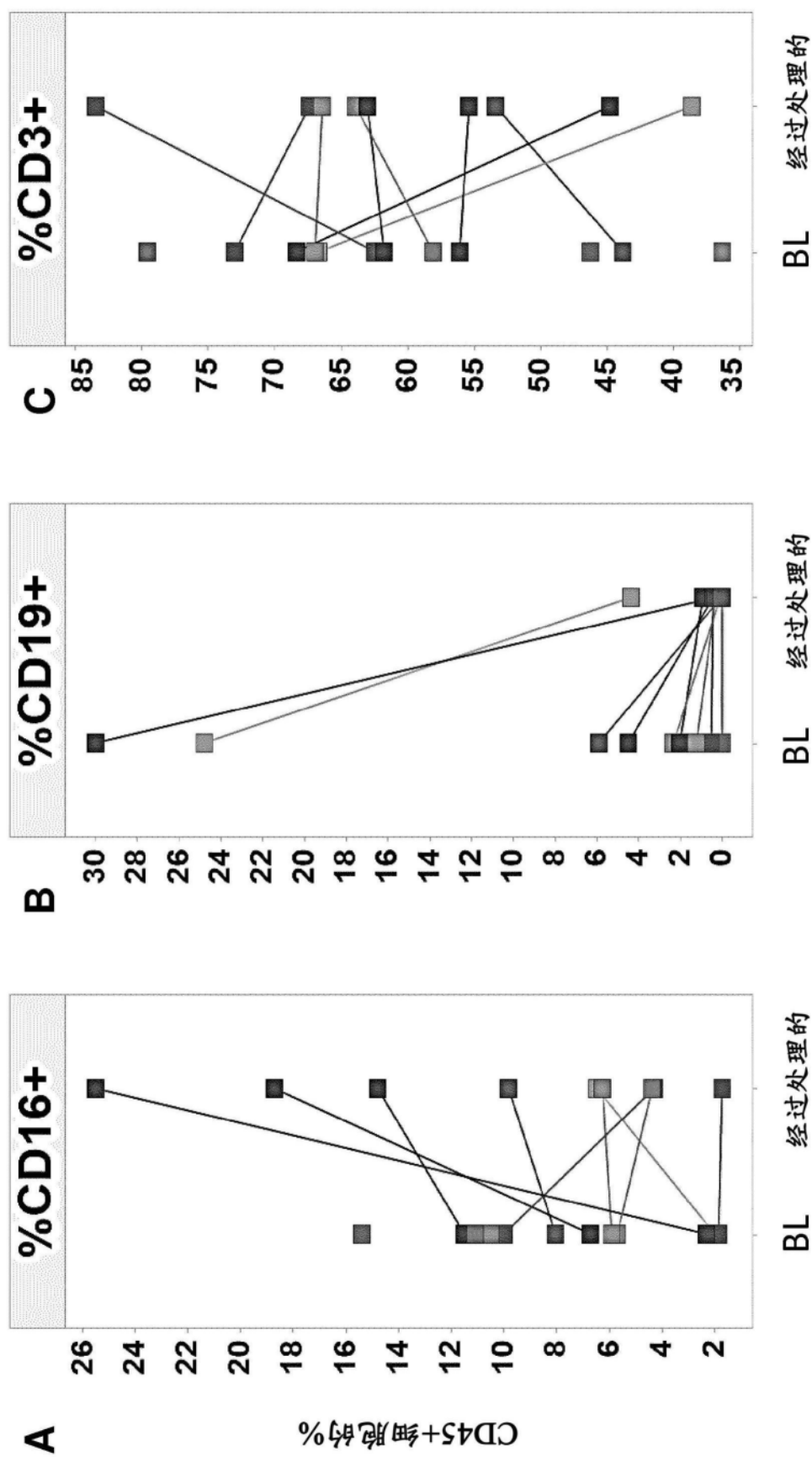


图4

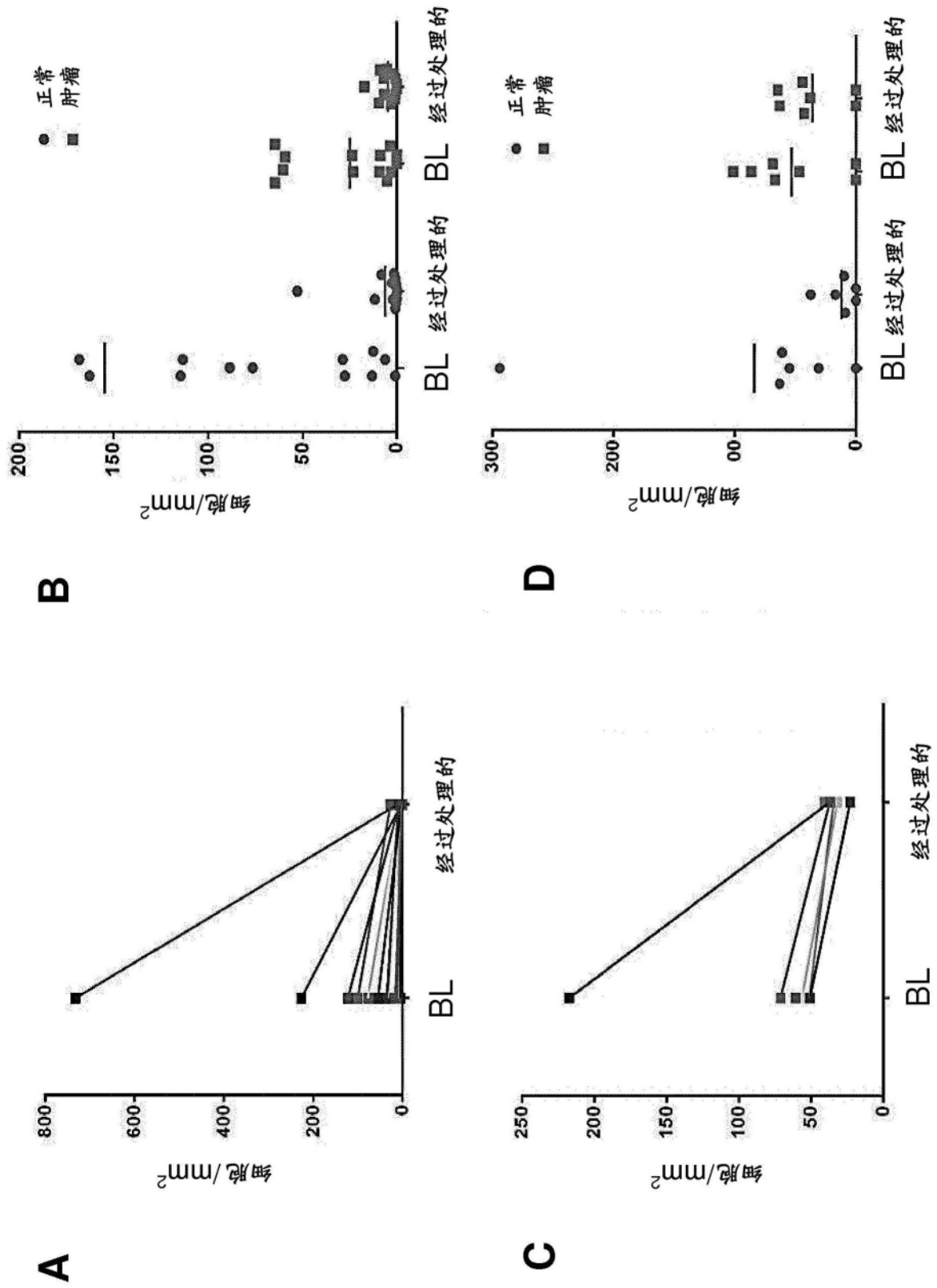


图5

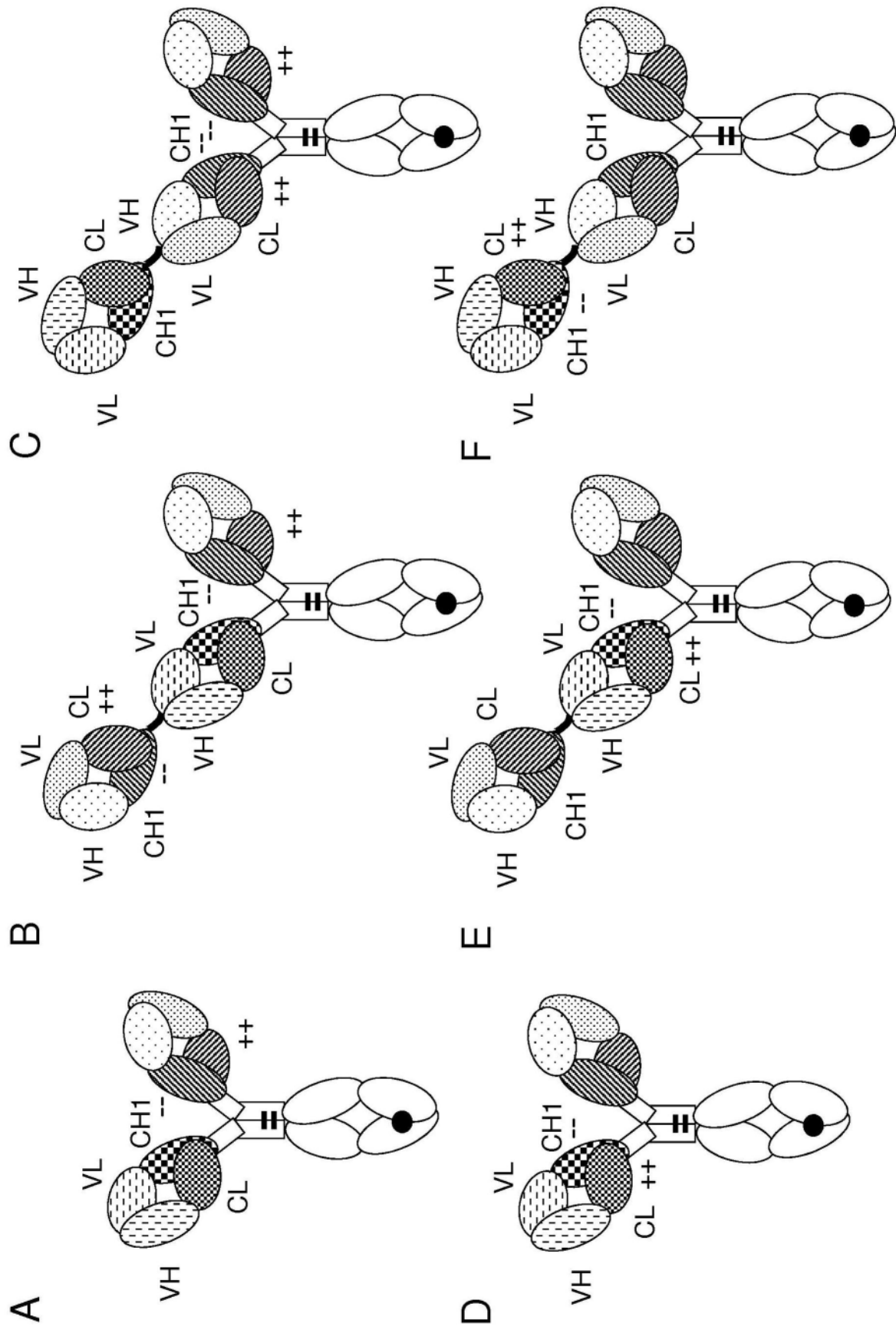


图6

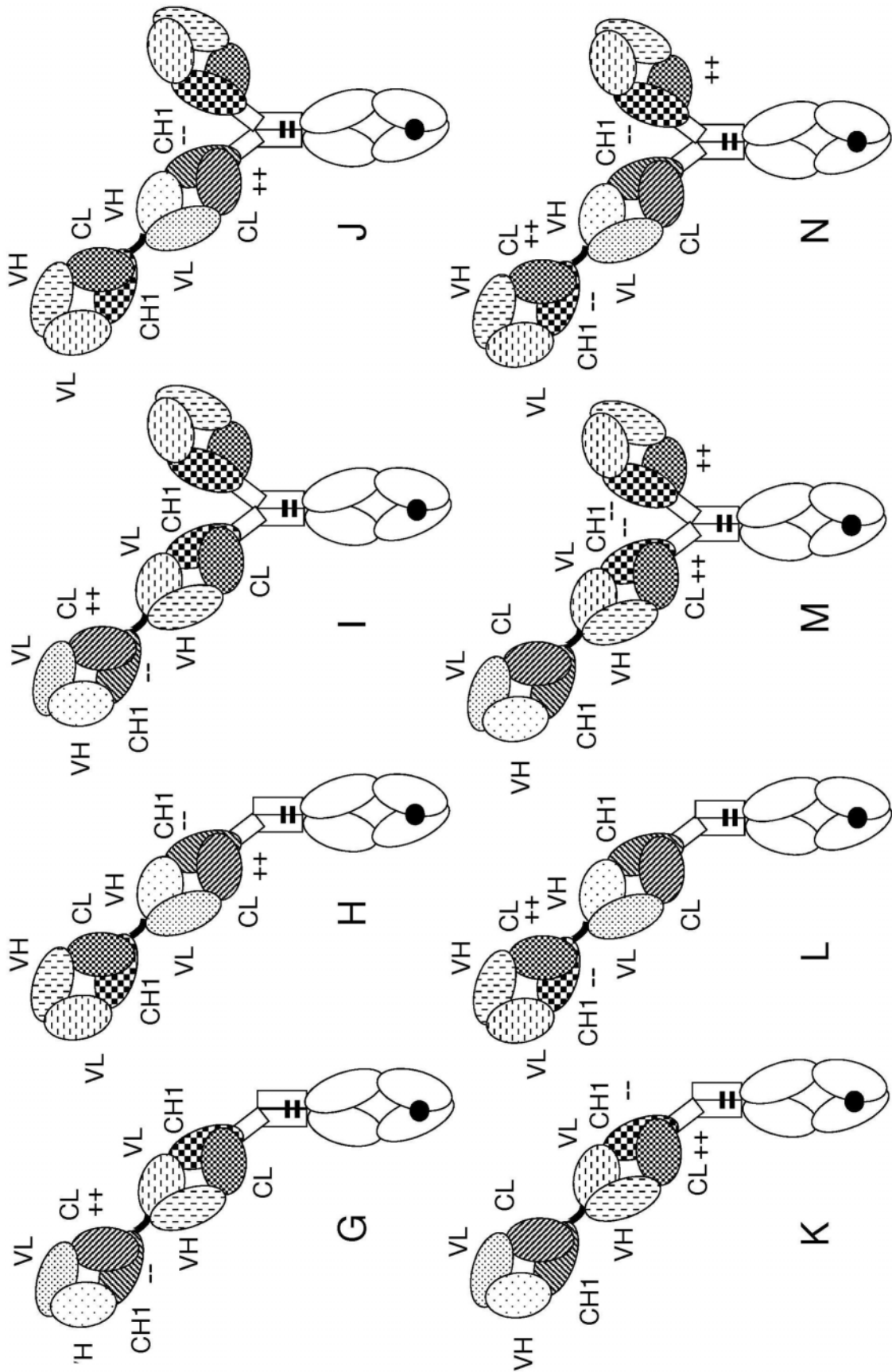


图6(续)

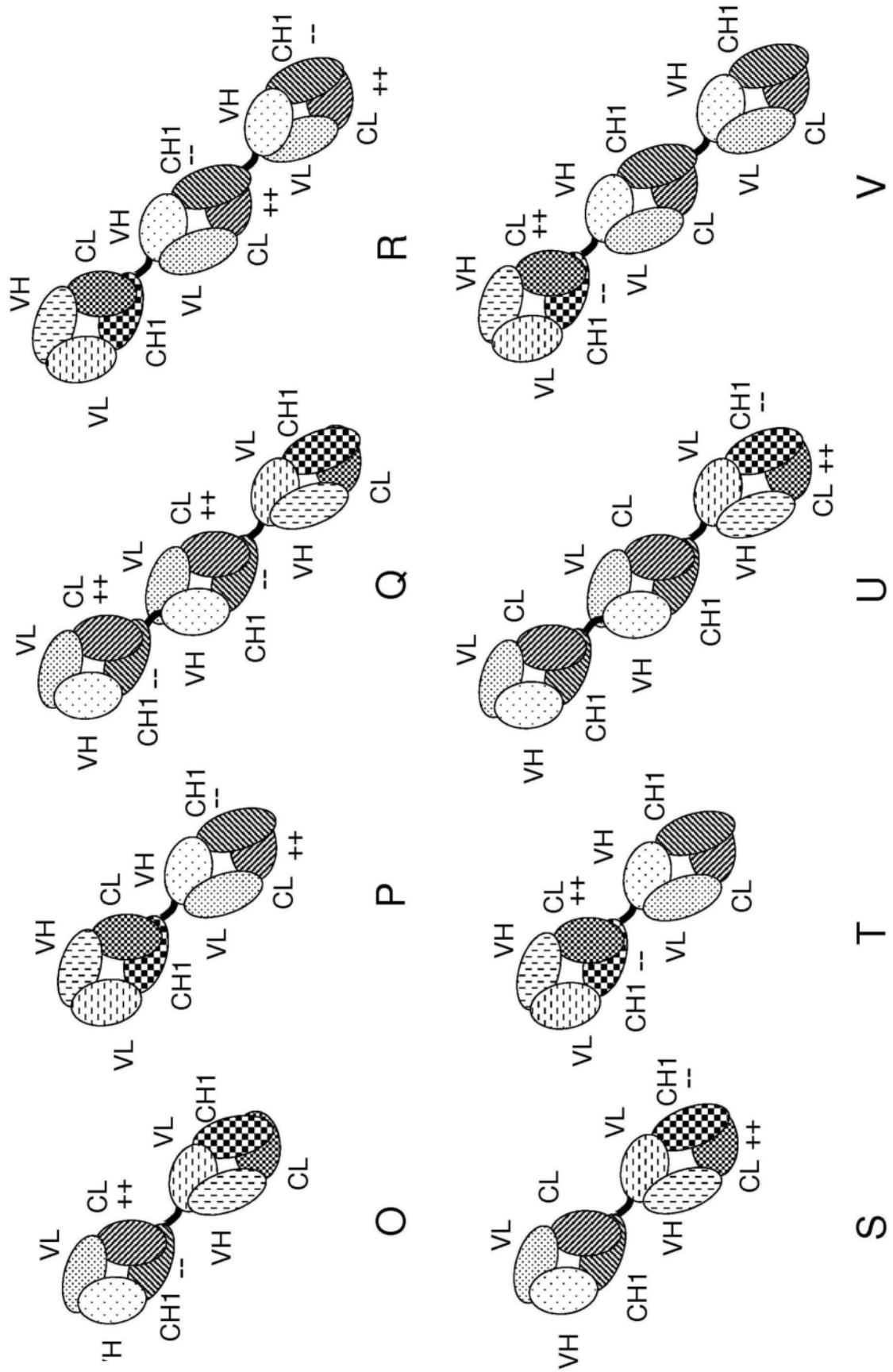


图6(续)

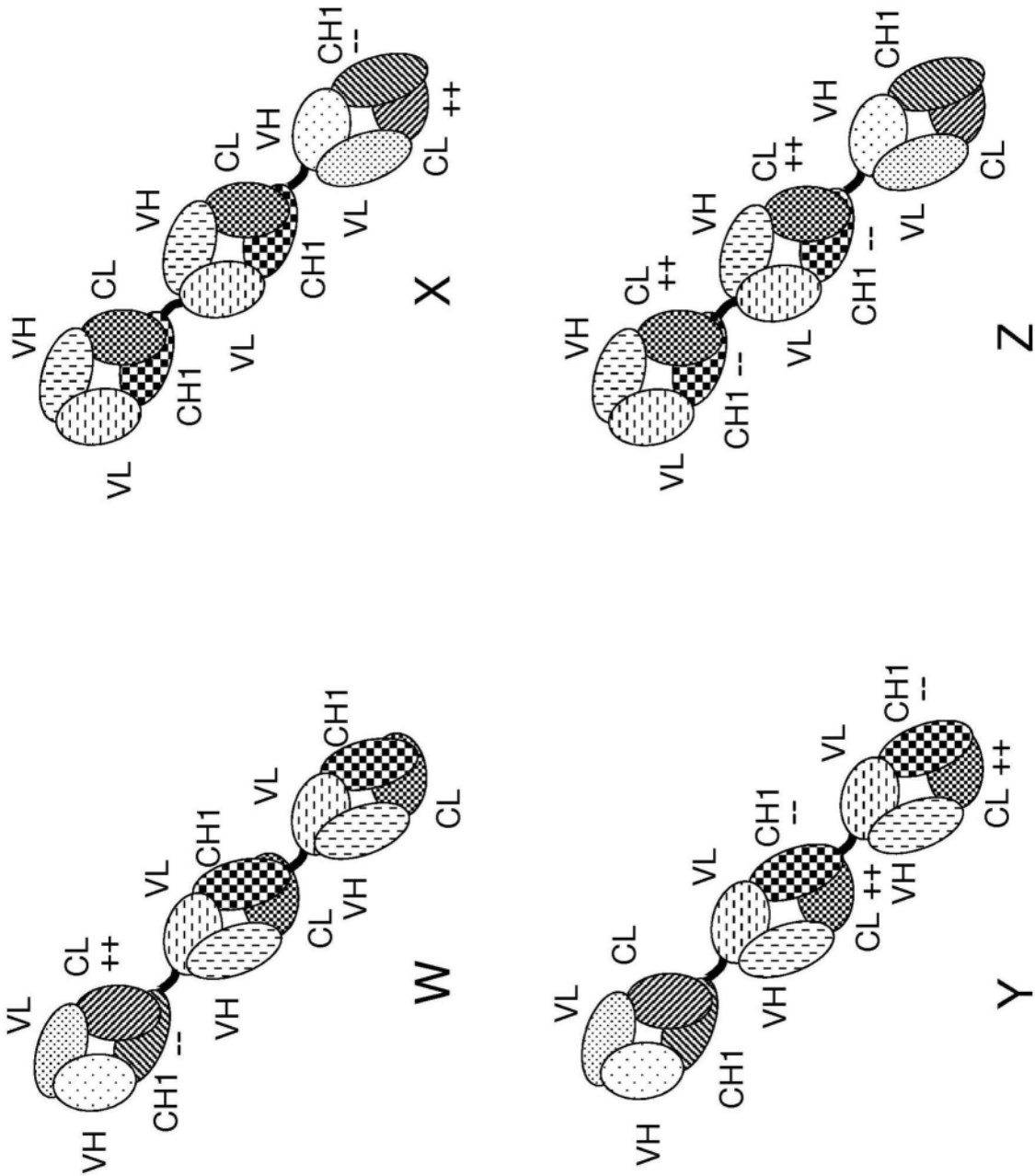


图6(续)

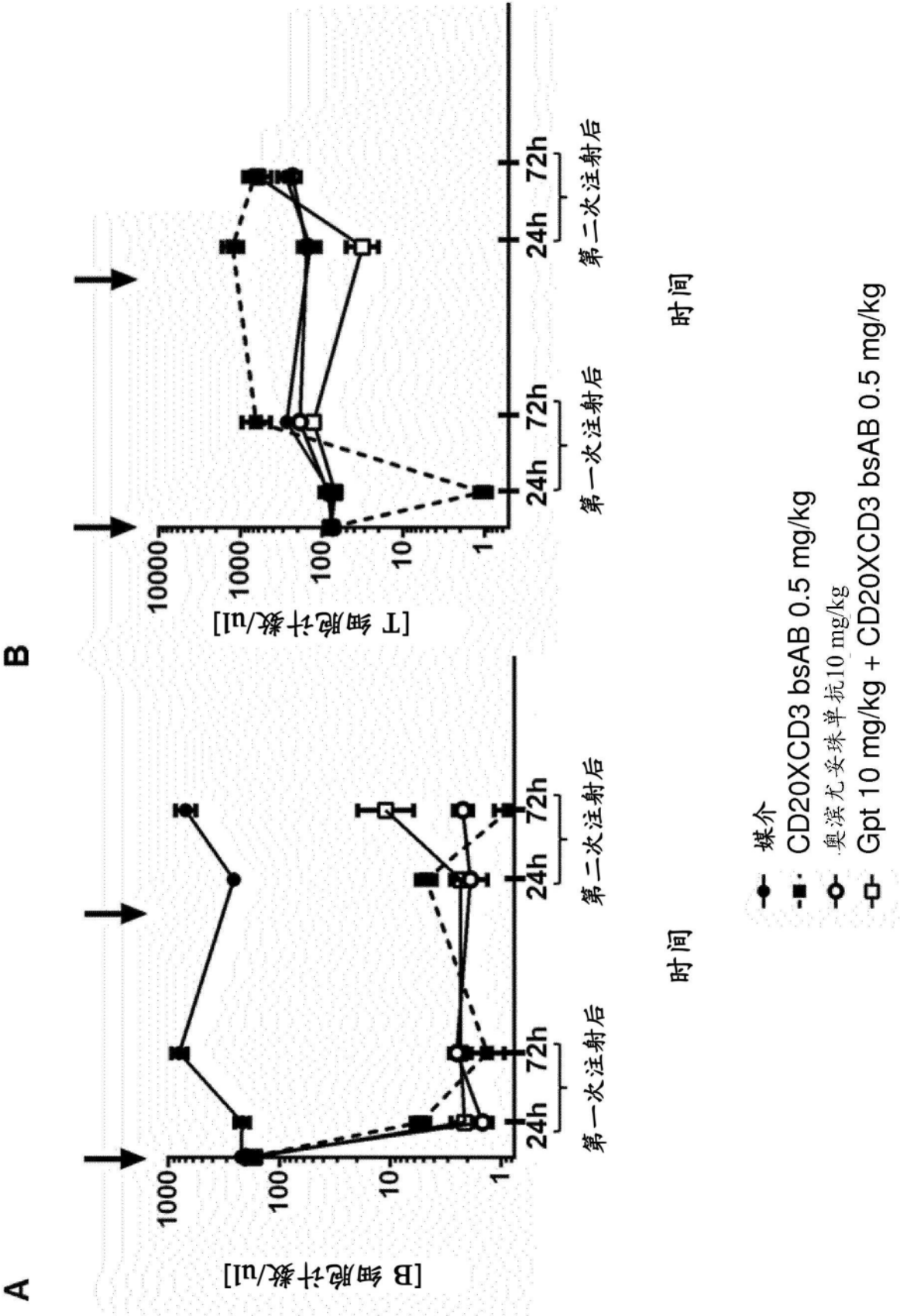


图7

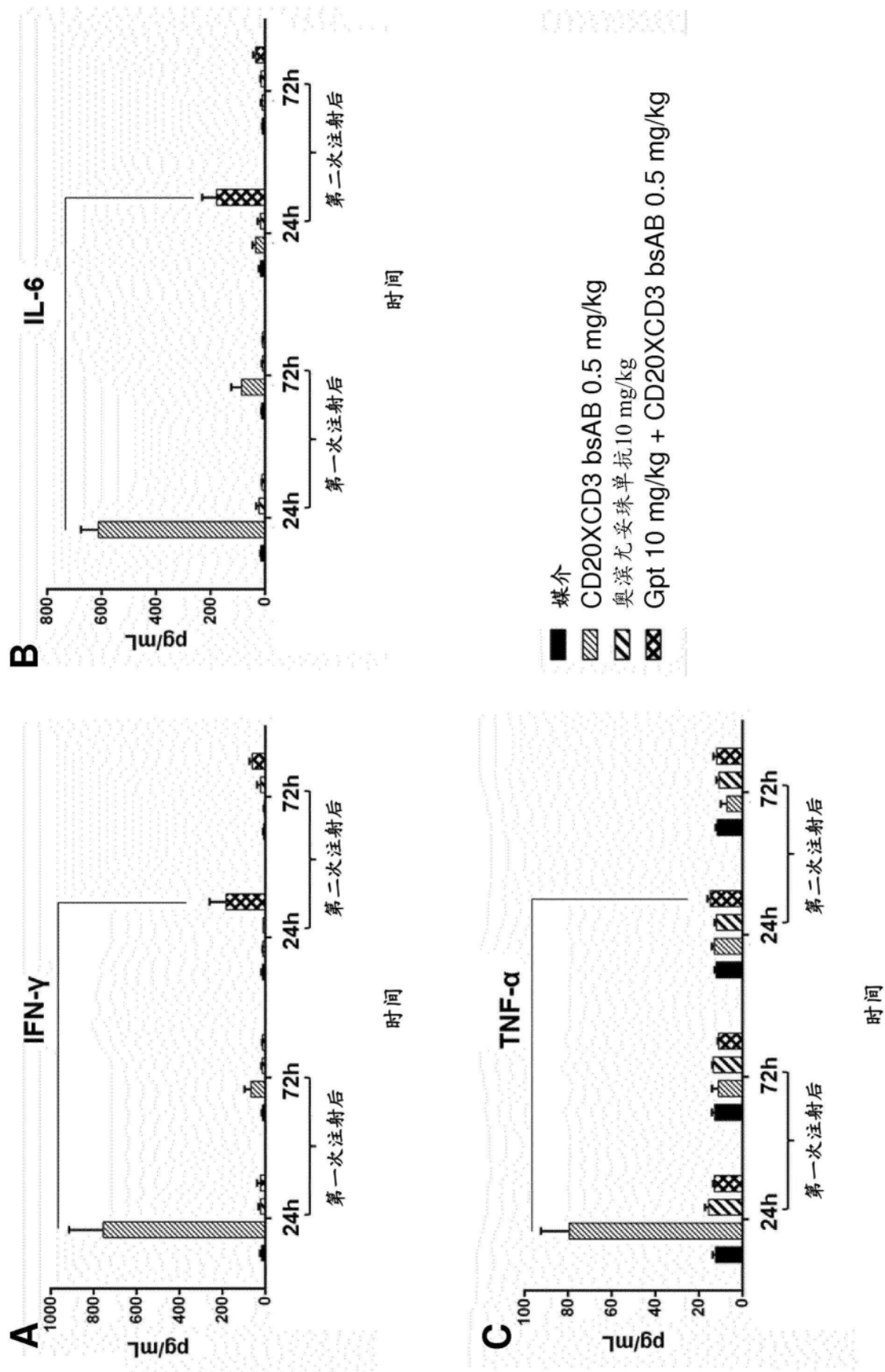


图8

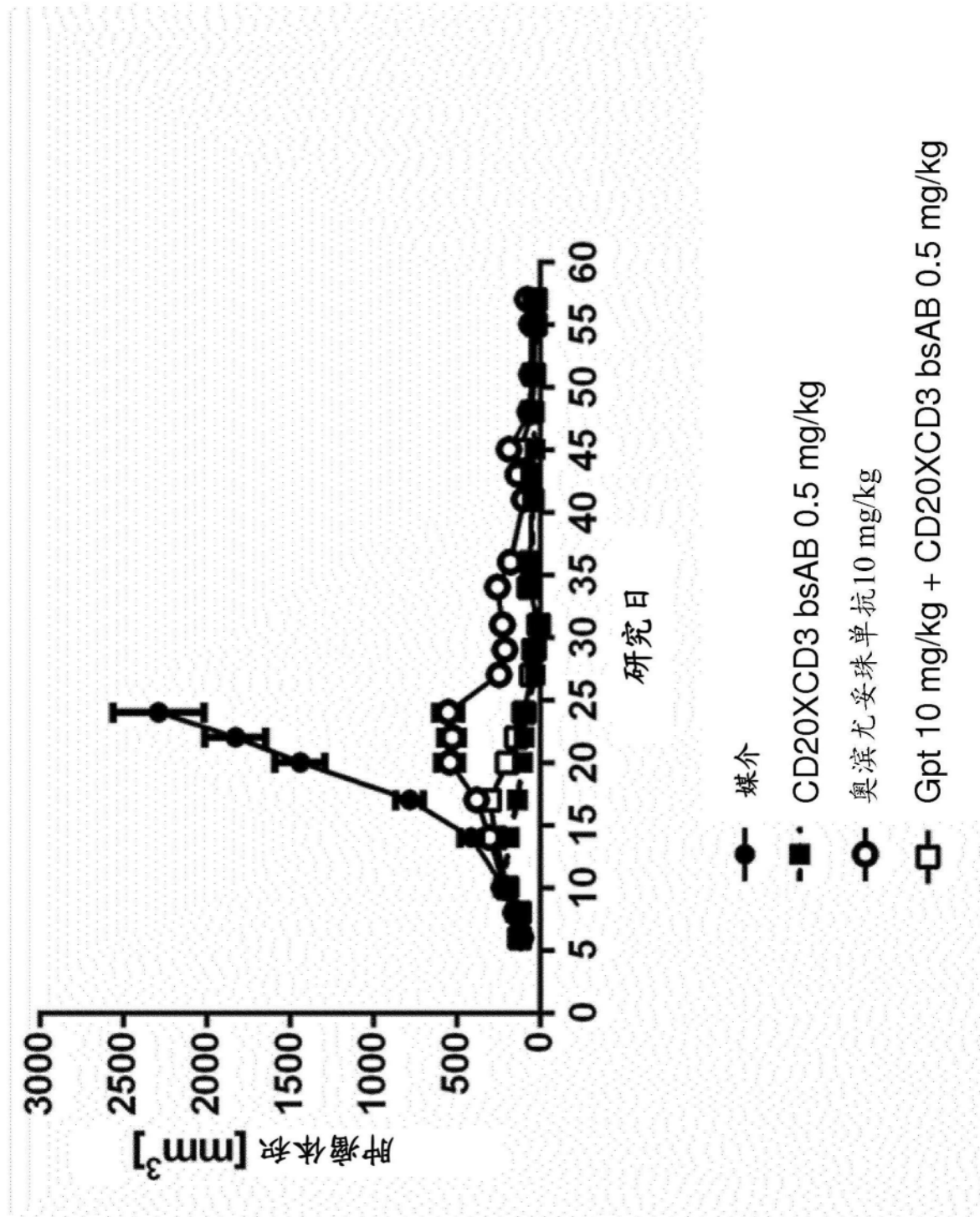


图9

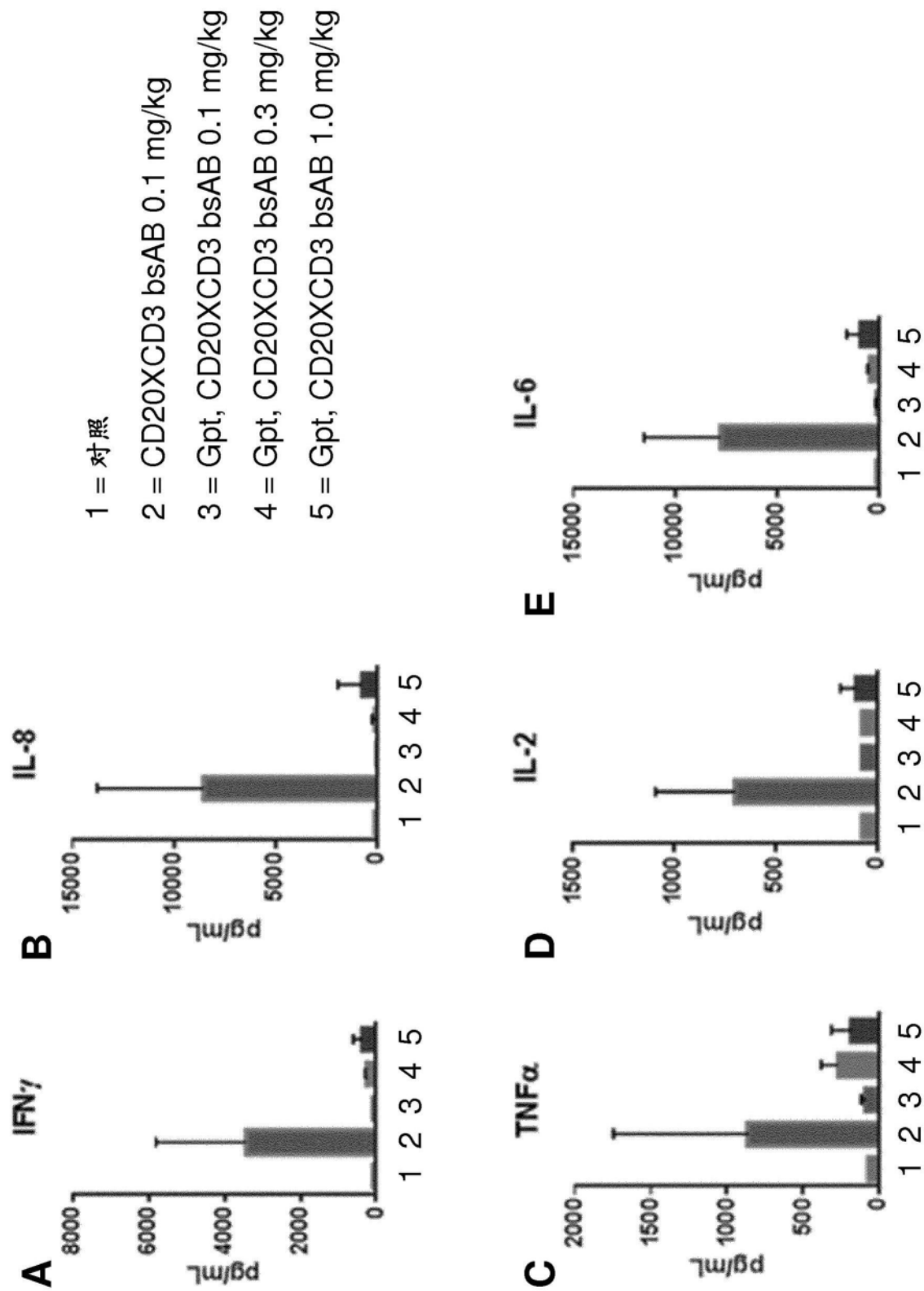


图10

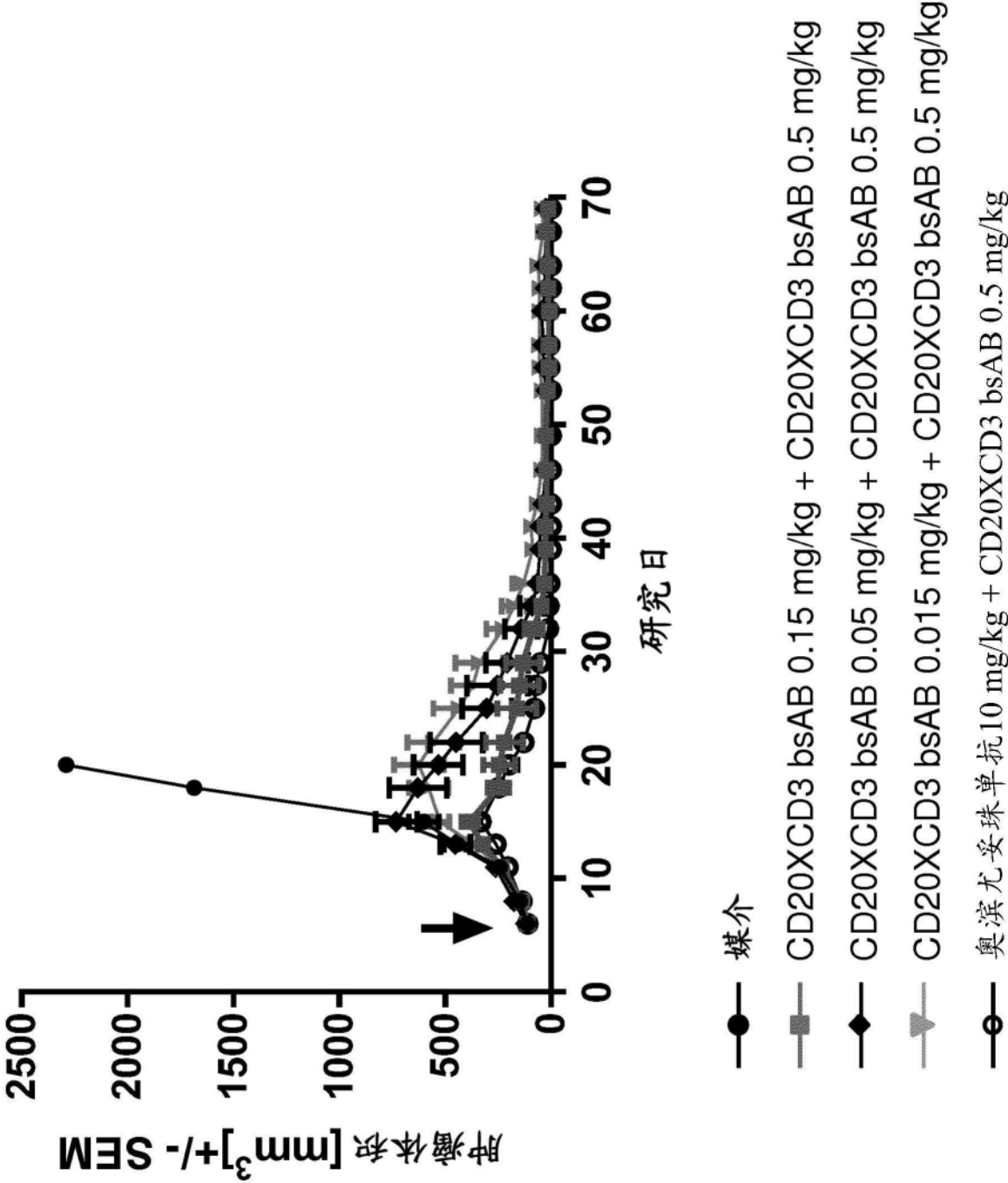


图11

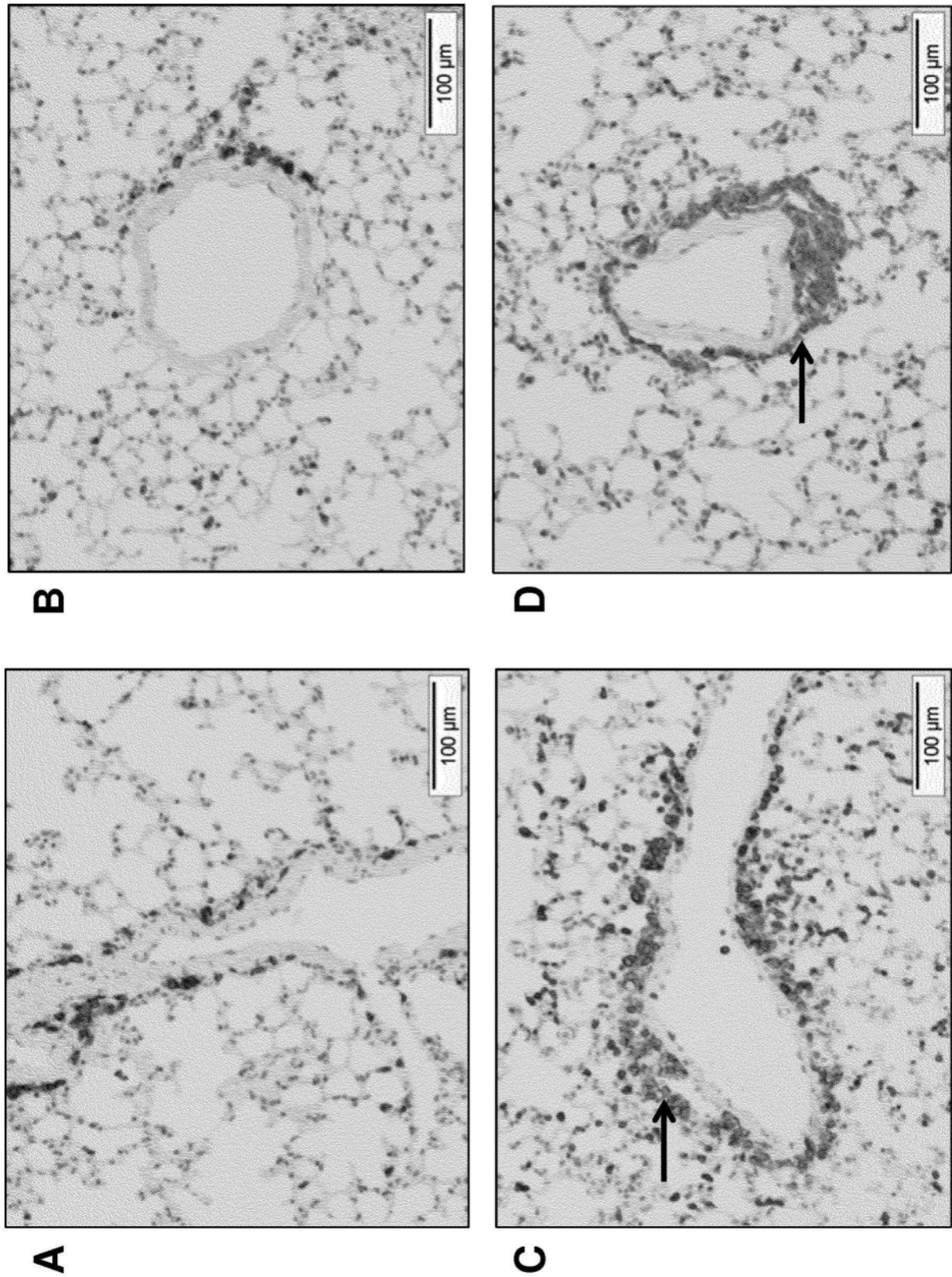


图12

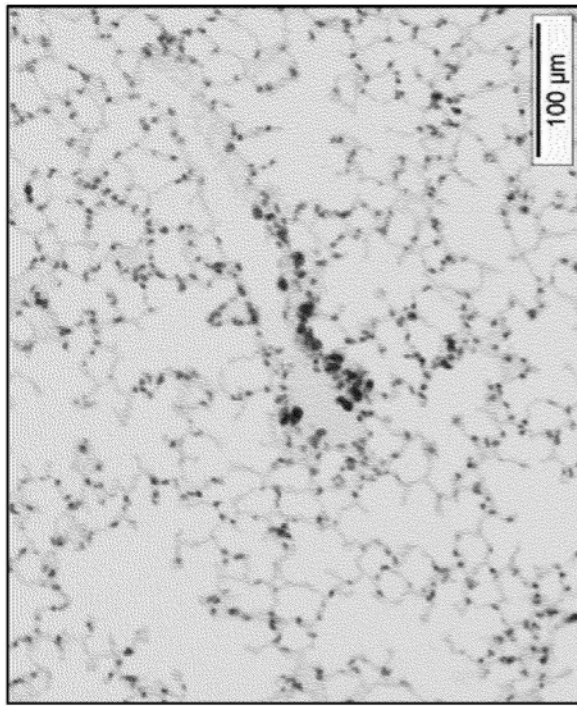
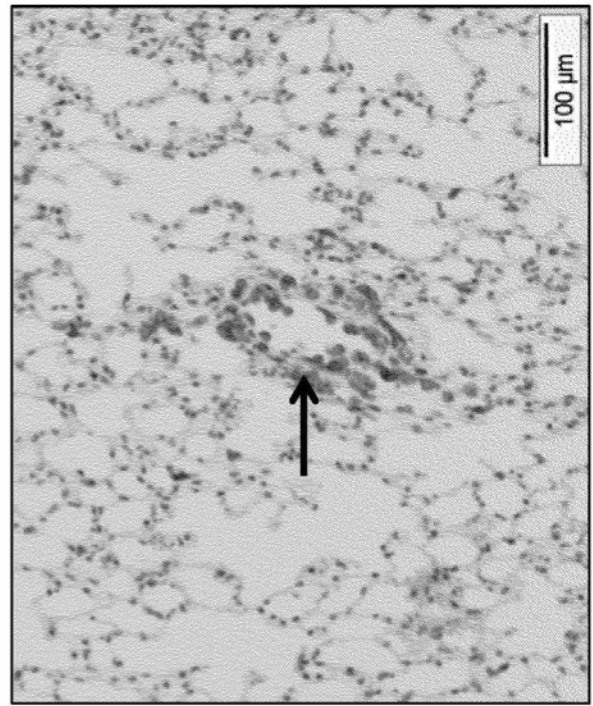
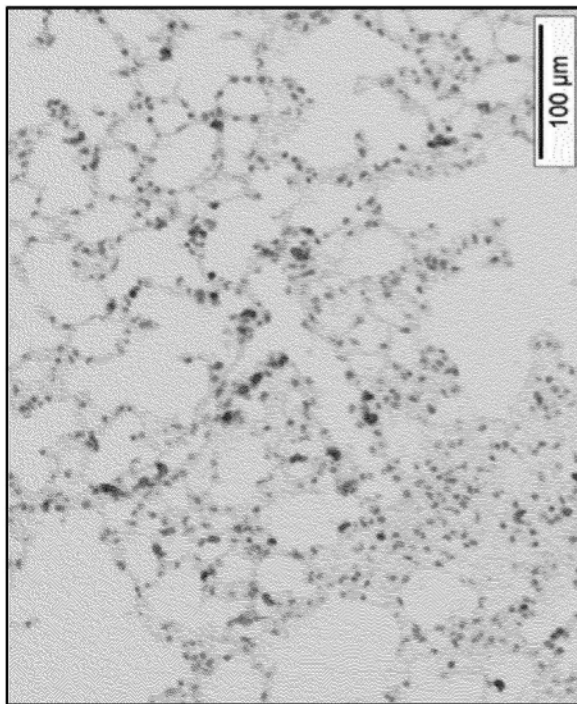
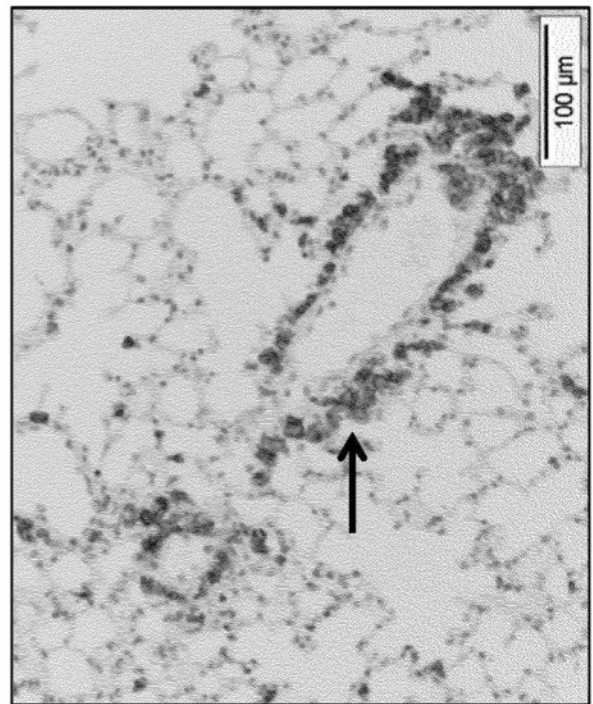
**F****H****E****G**

图12(续)

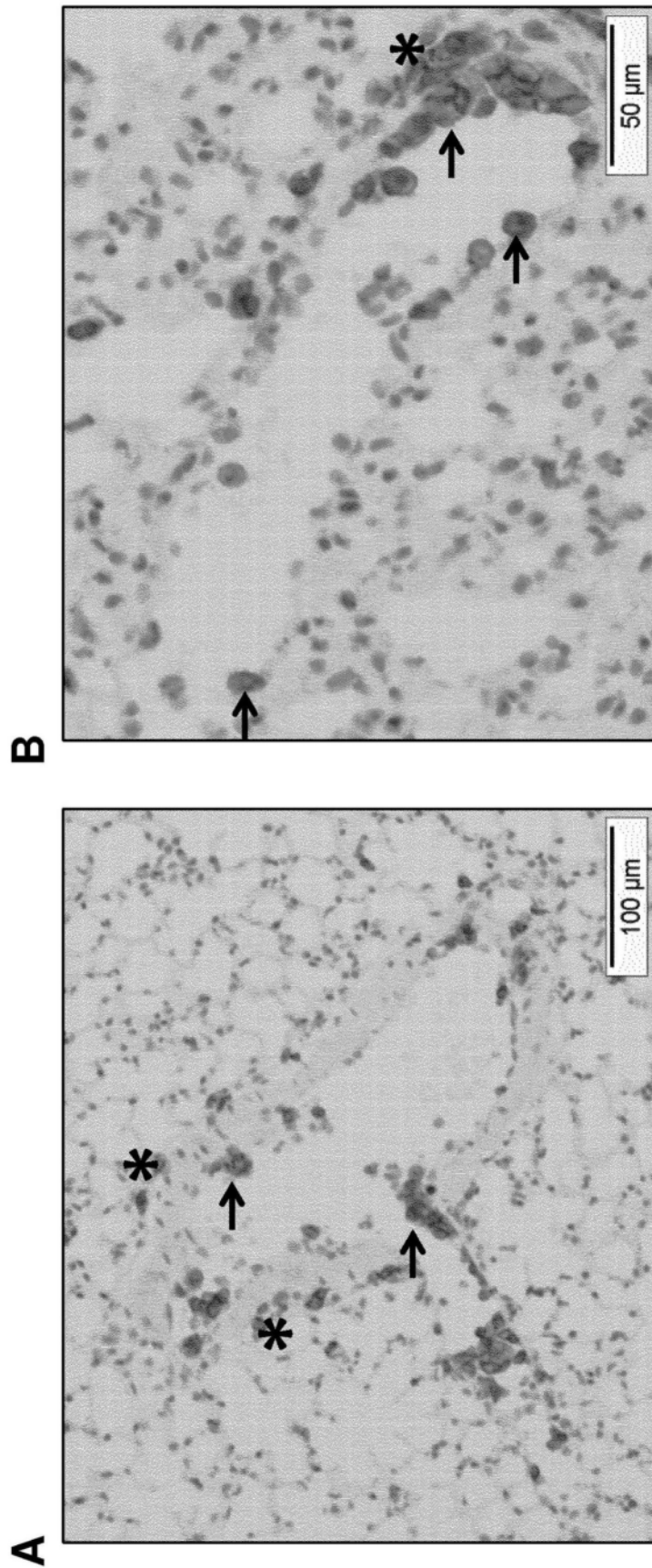


图13

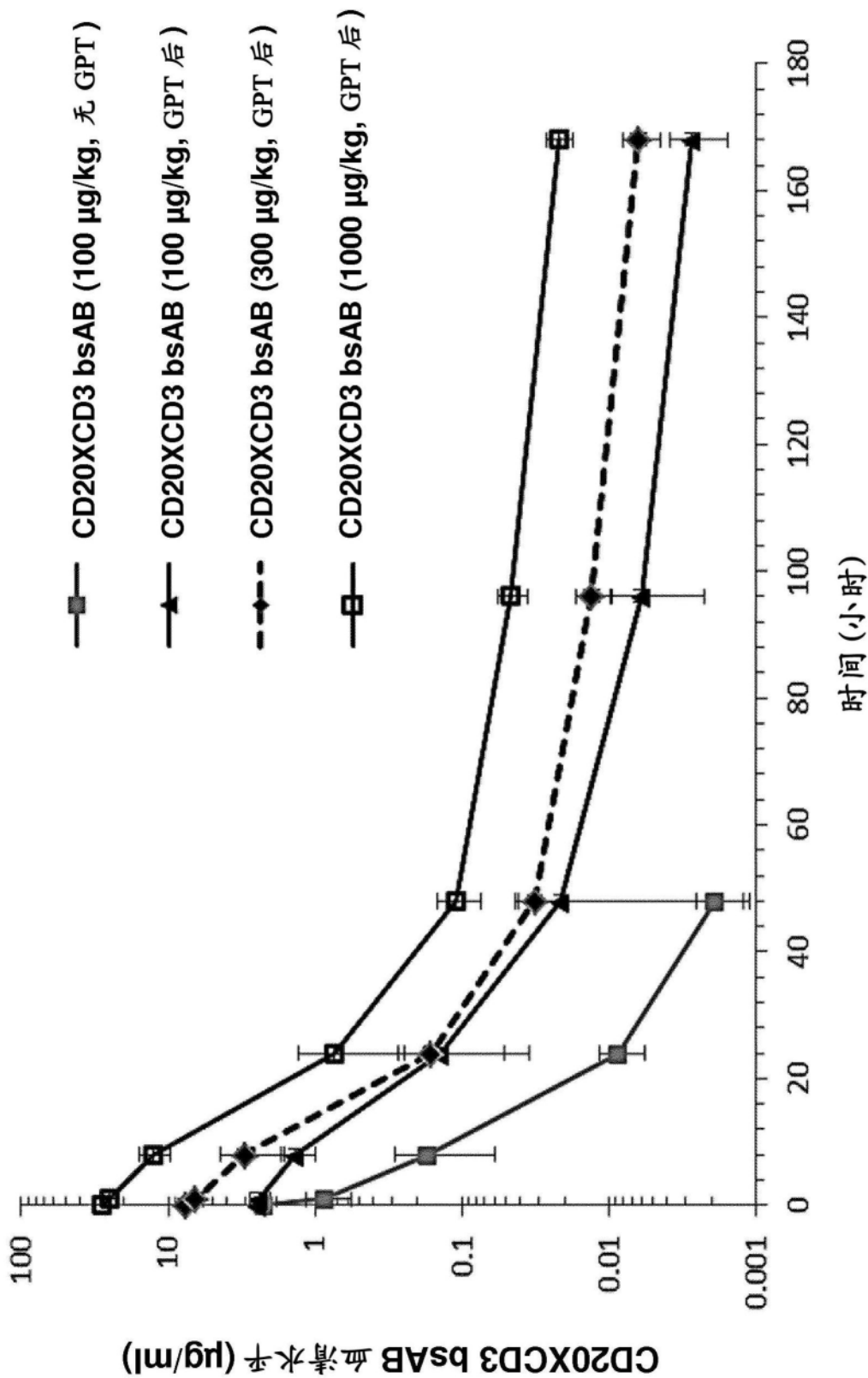


图14